

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE *DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES*

PAR

HERBERT MARCOVICH

1^{re} THÈSE

**ÉTUDE RADIOBIOLOGIQUE
DU SYSTÈME LYSOGÈNE D'ESCHERICHIA COLI K 12**

2^e THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 13 février 1957 devant la Commission d'examen.

MM. JOLIOT, Président.

*WURMSER {
L'HÉRITIER { Examineurs.*

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE *DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES*

PAR

HERBERT MARCOVICH

1^{re} THÈSE

**ÉTUDE RADIOBIOLOGIQUE
DU SYSTÈME LYSOGÈNE D'ESCHERICHIA COLI K 12**

2^e THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 13 février 1957 devant la Commission d'examen.

MM. JOLIOT, *Président.*

WURMSER }
L'HÉRITIER } *Examineurs.*



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen. J. PERES

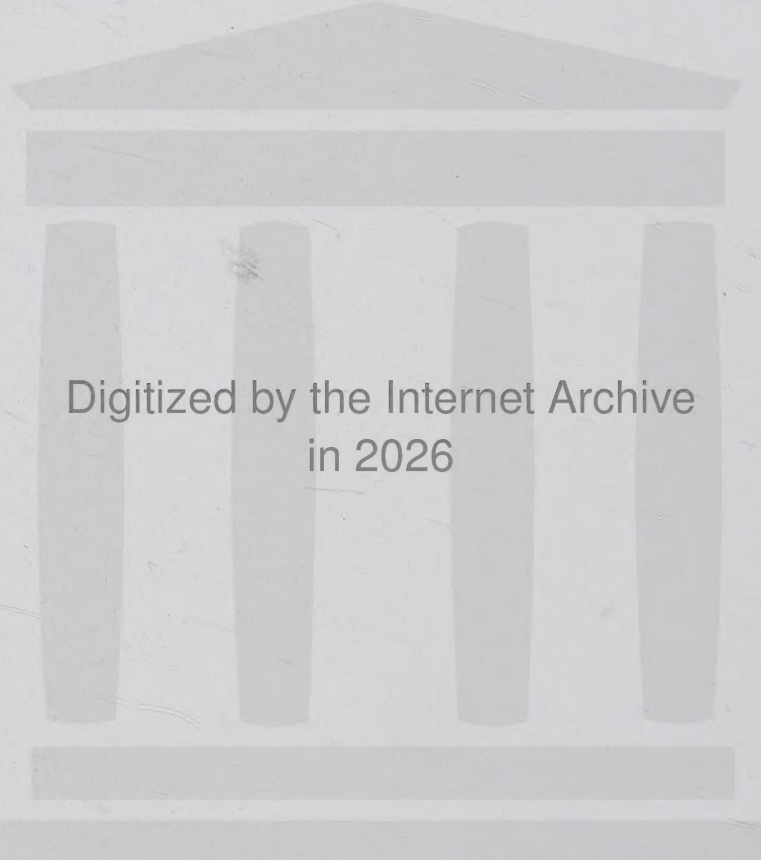
G. JULIA	T	Anal. sup. et Algèbre sup.	DANJON	T	Astronomie.
E. DARMOIS	T	Enseignement de Physique	FROMAGEOT	T	Chimie biologique.
FOCH	T	Méc. phys. et expérim.	LAPORTE	T	Phys. génér. et radio-activité.
PAUTHENIER	T	Électrotechnique générale.	JANET	T	Méc. anal. et méc. céleste.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.	PETIT	T	Biologie maritime.
JOB	T	Chimie générale.	QUENEY	T	Météor. et dyn. atmosphér.
PRENANT	T	Anatomie et Histol. comparées.	GALLIEN	T	Embryologie.
GARNIER	T	Géométrie supérieure.	EICHHORN	T	Biologie végétale (P.C.B.).
PERES	T	Mécanique des fluides et appl.	DE CUGNAC	T	Biologie végétale (P.C.B.).
LAUGIER	T	Physiologie générale.	Mlle CAUCHOIX	T	Chimie physique.
M. CURIE	T	Physique (P. C. B.).	THELLIER	T	Physique du Globe.
BARRABE	T	Géol. struct. et Géol. appl.	AUDUBERT	T	Électrochimie.
G. DARMOIS	T	Calcul des prob. et Phys. math.	L'HÉRITIER	T	Génétique.
J. BOURCART	T	Géogr. phys. et Géol. dynam.	GRIVET	T	Radioélectricité.
PLANTEFOL	T	Botanique.	PONCIN	T	Mécanique des fluides.
GRASSE	T	Évol. des êtres organisés.	THIRY	T	Mécanique appliquée.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
BOULIGAND	T	Appl. de l'analyse à la Géom.	QUELET	T	Chimie organique.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
WYART	T	Minéralogie.	CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
TEISSIER	T	Zoologie.	CUVILLIER	T	Géol. struct. et Géol. appl.
MANGENOT	T	Biologie végétale.	JUNG	T	Pétrographie.
P. AUGER	T	Physique quantique et relative.	TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
MONNIER	T	Physiologie des fonctions.	WIEMANN	T	Chimie organique structurale.
PIVETEAU	T	Géologie.	JACQUINOT	T	Spectrosc. et Phys. céleste.
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
H. CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
LAFFITE	T	Chimie générale.	M. PRUVOST	T	Géologie.
FAVARD	T	Mécanique générale.	AMIEL	T	Chimie (P.C.B.).
COULOMB	T	Physique du Globe.	HOCART	T	Minéralogie.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (P. C.B.).	J. P. MATHIEU	T	Physique (P.C.B.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.).
P. DRACH	T	Zoologie.	MAY	T	Biologie animale (P.C.B.).
KASTLER	T	Physique.	CHOQUET	T	Calcul diff. et intégral.
ÉPHRUSSI	T	Génétique.	FELDMANN	T	Biologie (P.C.B.).
WURMSER	T	Biol. physico-chimique.	GUINIER	T	Physique (P.C.B.).
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.).	JOST	T	Biologie (P.C.B.).
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.).	FORTET	T	Calcul des probabilités.
LUCAS	T	Recherches physiques.	SCHWARTZ	T	Méth. mathém. de la phys.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
ARNULF	T	Optique appliquée.	MALAVARD	T	Aviation.
M. MORAND	T	Physique.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
SOLEILLET	T	Physique.	NORMANT	T	Chimie (P.C.B.).
FORTIER	T	Méc. expér. des fluides.	BÉNARD	T	Chimie (P.C.B.).
			BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).

DUGUÉ	T	Statist. mathématiques.	FRANÇON	Physique (M.P.C.).
GELOSO		Chimie (S.P.C.N.).	GLANGEAUD	T Géographie physique et Géologie dynamique.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.	GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.).
ULRICH	T	Physiologie végétale.	PISOT	T Calcul des probabilités.
MARÉCHAL	T	Optique théor. et appl.	ROCH (E.)	Géologie.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.	SCHATZMANN	T Astrophysique.
CHADEFAUD		Botanique.	TERMIER	T Paléontologie stratigraphi- que.
DESTRIAU		Physique (M.P.C.).	ZAMANSKY	T Mathématiques générales.
Mlle LE BRETON		Physiologie générale.	JOLIOT	T Physique nucléaire et radio- activité.
SALEM		Mathématiques générales.		
LELONG	T	Mathématiques générales.		
DEVILLERS		Anat. et Histol. comparées.		
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.		

Secrétaire général. . . C. MONIER

A MA MÈRE

A MA FEMME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Je dois à M. le Docteur Latarjet, directeur de l'Institut du Radium, l'essentiel de mes acquisitions dans le domaine de la radiobiologie. Ses suggestions et ses critiques m'ont été précieuses pour la conduite et l'achèvement de ce travail. Je suis heureux de pouvoir lui témoigner ici ma gratitude.

M. le Professeur Lacassagne, Membre de l'Institut, a bien voulu s'intéresser de près à mes recherches. Ses conseils et sa constante bienveillance ont été pour moi les meilleurs des encouragements. Je le prie de trouver ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier M. B. Ephrussi, professeur à la Sorbonne, à qui je suis redevable de ma formation de biologiste, et M. P. L'Héritier, professeur à la Sorbonne qui a parrainé mes recherches.

Il m'est agréable de témoigner ma reconnaissance à M. le Docteur A. Lwoff, chef de service à l'Institut Pasteur, qui s'est toujours intéressé à mes travaux.

Je tiens à remercier également M. le Docteur J. F. Duplan, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, et M. M. Lefort, chargé de recherches au C. N. R. S. pour les fructueuses discussions auxquelles ils se sont prêtés.

M. P. Morenne m'a été d'une aide précieuse en participant activement à la construction d'un appareil à culture continue, Mlle R. Vayne m'a apporté pendant l'accomplissement des expériences une collaboration technique très efficace. Je suis heureux de leur adresser mes remerciements.

INTRODUCTION

Le problème du mécanisme de l'action biologique des radiations ionisantes est complexe. L'effet observé au niveau de cellules isolées, ou d'organismes multicellulaires est le résultat d'une longue série d'événements qui font suite à l'événement initial : l'absorption de l'énergie radiante. Si les processus liés à cette absorption sont actuellement bien connus, en revanche les étapes chimiques et physiologiques qui lui succèdent restent mal expliquées. Plusieurs causes concourent à cette situation. En premier lieu, les événements chimiques qui sont la conséquence de l'absorption d'énergie sont fugaces et n'ont pu être étudiés jusqu'ici avec quelque précision que sur l'eau pure ou additionnée de quelques corps simples. En second lieu, pour élucider le mécanisme même de la formation des lésions, il faudrait, d'une part connaître exactement la structure cellulaire atteinte, d'autre part, savoir quelles sont les modifications que peuvent y apporter les réactions radiochimiques consécutives à l'irradiation. Enfin, bien que le problème de l'action des radiations ionisantes sur la matière vivante ait fait l'objet d'un nombre imposant de travaux, la découverte de facteurs modificateurs de cette action est de date relativement récente. Ici encore en raison des incertitudes qui subsistent sur la nature et le déroulement des réactions radiochimiques, la manière dont agissent ces facteurs est très controversée.

L'étude de l'action des radiations ionisantes sur les êtres pluricellulaires est rendue difficile par le fait que les lésions même prédominant sur un tissu ou un organe, ont tendance à retentir sur l'organisme tout entier. Les interactions complexes qui s'établissent, l'existence de réactions de défense, de lésions secondaires

entraîne autant d'incertitudes et rendent, dans bien des cas, aléatoire l'interprétation des faits observés à l'échelle cellulaire.

Les micro-organismes constituent en revanche un matériel de choix pour l'étude quantitative de l'action biologique de ces radiations. Les populations que l'on peut analyser sont immenses et d'une grande homogénéité. En outre l'absence d'interaction entre les cellules traitées simplifie grandement l'interprétation des résultats. Mais, l'utilisation des renseignements fournis par les micro-organismes a ses limites. Les extrapolations que l'on est amené à faire aux organismes plus complexes restent hasardeuses. Néanmoins, en raison de l'unité de la réaction des systèmes biologiques à l'égard des radiations, les êtres unicellulaires peuvent valablement servir de modèles pour la représentation de ce qui se passe avec les organismes supérieurs.

Les premiers travaux sur l'irradiation des bactéries par les radiations ionisantes ont été entrepris peu après la découverte de Röntgen. Cependant, il fallut attendre quelques années pour avoir des sources de rayons X suffisamment puissantes. Rieder en 1898, peut entraver, *in vitro*, la croissance de cultures de diverses espèces bactériennes, et même stériliser des suspensions de Vibron cholérique. De leur côté, Achkinass et Caspari montrèrent, en 1901, que l'activité bactéricide des corps radio-actifs est attribuable aux rayons α et β (cités par Lacassagne, 1933). En 1904, Green montra que les spores sont plus résistantes aux rayons β du radium que les formes végétatives. La première courbe reliant la dose à l'effet fut établie par Chambers et Russ (1912). Il s'agissait de l'action léthale des rayons β sur le staphylocoque doré. La relation fut trouvée exponentielle. Il fut montré en outre que des bacilles pyocyaniques soumis à ces radiations conservaient leur mobilité alors qu'ils étaient incapables de se diviser et de former des colonies.

Les premières théories sur le mécanisme d'action des radiations ionisantes cherchaient à expliquer le contraste qui existe entre l'extrême petitesse de l'énergie radiante nécessaire, et l'ampleur des lésions biologiques provoquées. Ainsi, un röntgen détermine dans 1 cm^3 d'eau une élévation thermique de $2,25 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}$. Les effets biologiques les plus intenses s'observent avec une dose incapable de provoquer une élévation de la température supérieure à $10^{-2} \text{ }^\circ\text{C}$.

Ce fut en 1923 que Dessauer émit sa théorie des points de chaleur selon laquelle les radiations ionisantes détermineraient des élévations de température très localisées, et suffisantes pour altérer grièvement les molécules qui en sont le siège.

Les premiers traitements statistiques des résultats de l'action biologiques des radiations ionisantes, et le concept d'une cible ou d'une section efficace sont dus à Blau et Altenburger (1923).

En 1924, Crowther traita l'aspect quantitatif de l'action inhibitrice des radiations ionisantes sur les mitoses. Il considéra que cette action était liée à la probabilité de survenir d'événements distribués au hasard, les ionisations, dans un organite aux limites définies. Il appliqua cette méthode en supposant que l'organite en cause était le nucléole, et trouva des résultats en accord avec l'observation.

En 1929, Lacassagne et Holweck reconsidérèrent la question en supposant que l'événement élémentaire était l'absorption du photon.

Enfin, en 1932 Glocker, en 1934 Mayneord, et en 1936 Lea et ses collaborateurs reprirent les idées de Crowther en introduisant une correction tenant compte de l'hétérogénéité de la répartition des ionisations sur les trajectoires électroniques.

Le traitement statistique des relations dose-effet adopté par ces auteurs est connu sous le nom de « théorie de la cible ». Cette théorie parut suffisante pendant un quart de siècle pour rendre compte du mécanisme d'action des radiations ionisantes. Cependant, deux faits ne tardèrent pas à lui faire perdre de sa généralité ; c'est la découverte de l'effet indirect par Dale en 1940, et celle des facteurs modificateurs de la radiosensibilité. Ces facteurs faisaient mettre l'accent sur la possibilité de réactions entre les systèmes biologiques sensibles et des produits formés par le rayonnement dans le milieu ambiant.

Ils s'opposaient au mécanisme d'action directe, implicitement contenu dans la théorie de la cible, mécanisme selon lequel l'événement initial, absorption du photon ou formation d'un ion, intéressait, sans intermédiaires, la molécule dont l'altération serait responsable de l'effet observé.

Récemment encore, il était généralement admis que, s'il n'existait pas de critères spécifiques d'un effet direct, du moins on pouvait reconnaître un mécanisme d'action indirecte par le fait que des substances chimiques ou des modifications de la tension d'oxygène pouvaient changer l'efficacité d'action du rayonnement ionisant. Or, il apparaît actuellement que certains corps, notamment ceux qui possèdent un noyau aromatique, le benzène par exemple (Manion et Burton, 1952) peuvent empêcher l'évolution d'un changement provoqué dans une molécule en étant l'objet d'un transfert d'énergie. Il s'agirait en somme d'une restauration contemporaine de l'effet primaire.

* *
* *

Parmi les questions que pose le problème de l'action biologique des radiations ionisantes, il en est trois qui nous paraissent revêtir une importance particulière.

1) Que devient l'activité biologique à des doses inférieures à celles qui donnent un effet biologique observable? Peut-il exister un phénomène de seuil ou de changement de l'efficacité biologique?

2) Quel est le mécanisme des modifications de la sensibilité aux radiations ionisantes apportées par les substances chimiques douées d'activité radio-protectrice? Ces corps sont-ils susceptibles d'une application à l'homme?

3) Si on expose des organismes pendant de nombreuses générations à un flux constant de rayons γ , y aura-t-il une évolution adaptative de la population vers une sensibilité moins grande? Quelle est l'action de la radiation ionisante naturelle sur les êtres vivants?

La notion de faibles doses est évidemment toute relative. La sensibilité des organismes aux radiations ionisantes est très différente selon les cas. Ainsi, chez les virus et les bactéries les doses qui produisent un même effet léthal (par exemple 63 p. 100 de morts) vont de quelques dizaines à quelques centaines de milliers de roentgens. Avec les organismes complexes comme le sont les animaux, cette notion de faible dose est très mal définie puisque la réponse à l'irradiation est qualitativement différente selon la quantité d'énergie radiante fournie. On peut cependant admettre que pour des effets faibles, les interactions tissulaires sont réduites au minimum. Dans des limites assez étroites, entre une vingtaine et une centaine de roentgens, les lésions des tissus peuvent être observées en quelque sorte à l'état pur. Il faut toutefois mettre à part les atteintes du génôme et l'action cancérogène. Dans le premier cas, les modifications résultent de toute évidence, de l'atteinte des cellules qui ont subi l'irradiation, sans aucune intervention des autres tissus. Dans le second, l'analyse est moins bien faite en raison de la difficulté de pratiquer des expériences d'une précision suffisante. En outre, s'il paraît raisonnable d'admettre que la cancérisation résulte d'une action ayant porté sur les cellules mêmes qui ont été le siège de la transformation maligne, l'existence d'influences hormonales, génétiques et co-carcinogéniques complique singulièrement l'analyse.

CHAPITRE PREMIER

ACTION DES RAYONS X, γ ET ULTRAVIOLETS SUR LE SYSTÈME LYSOGÈNE D'ESCHERICHIA COLI K12

En 1950, Lwoff, Siminovitch et Kjeldgaard découvraient un phénomène d'une importance considérable : l'induction des bactéries lysogènes à synthétiser des bactériophages sous l'influence des rayons ultraviolets. En 1951, Latarjet montra que les rayons X sont doués de la même propriété.

On sait qu'une bactérie lysogène possède, inscrit dans son patrimoine héréditaire, un provirus dont l'existence a été révélée par les expériences de Lwoff et Gutmann (1949). Ce provirus, sous l'effet des rayons ultraviolets ou des rayons X, peut évoluer, et aboutir à la synthèse de virus actifs, lesquels sont libérés dans le milieu de la lyse bactérienne.

Une bactérie lysogène est immune à l'égard des bactériophages qui correspondent au prophage qu'elle porte. Dans certains cas, il peut arriver qu'une bactérie lysogène perde le provirus qu'elle contient. Elle devient alors, sensible au virus correspondant, lequel peut l'infecter, s'y multiplier et la lyser.

Le système constitué par les bactéries lysogènes, les bactéries sensibles aux phages qu'elles produisent et par ces phages, présente un intérêt particulier du point de vue de la radiobiologie, car il comporte un certain nombre de propriétés étroitement dépendantes les unes des autres et susceptibles d'être envisagées séparément.

Ce travail concerne l'étude, à l'aide d'un système lysogène,

des trois questions mentionnées ci-dessus, à savoir celle de l'action des faibles doses, celle des facteurs modificateurs de la radiosensibilité, enfin celle du comportement d'une culture microbienne se multipliant dans un champ constant de rayons γ .

Dans la discussion on abordera la question de l'influence des radiations ionisantes naturelles sur les êtres vivants, compte tenu de l'information dont on dispose sur leur radiosensibilité.

I. — MATÉRIEL ET TECHNIQUE

1) SOUCHES BACTÉRIENNES ET MILIEUX DE CULTURE

a) La souche lysogène utilisée est *Escherichia coli* K12(λ) lysogène pour le bactériophage λ . Elle provient du laboratoire du docteur Lwoff.

b) La souche indicatrice sensible à λ *Escherichia coli* K12S résistante à la streptomycine, que nous a communiqué le docteur E. Wollmann. Certaines expériences ont été effectuées avec un mutant virulent λ_v de la forme «sauvage», λ^+ , isolé par le docteur Jacob.

Dans quelques expériences sur la radioprotection par des agents chimiques, nous avons utilisé une souche d'*Escherichia coli* B/r.

c) Les cultures sont effectuées dans du bouillon dont la composition est la suivante : Bacto-tryptone Difco, 5 g ; Nutrient broth Difco, 3 g ; NaCl, 5 g ; H₂O redistillée sur pyrex, q. s. p. 1 000 cm³.

Le temps de génération moyen de K12(λ) est de 28 mn à 37 °C. Cette souche est conservée à la glacière sur de la gélose inclinée contenant 1,2 p. 1 000 d'agar, additionné au milieu nutritif ci-dessus. Les cultures sont effectuées, à partir de ce stock, pendant 18 h à 37 °C, dans le milieu liquide puis conservées en glacière. C'est à partir de cette suspension que sont issues les cultures destinées aux expériences : on dilue 0,1 cm³ de la suspension mère dans 10 cm³ de bouillon et on incube pendant 4 h à 37 °C. Au bout de ce temps, la densité bactérienne a atteint la fin de la période de croissance exponentielle, soit $3 \cdot 10^9$ bactéries/cm³. La suspension mère est renouvelée toutes les semaines.

Dans quelques cas, les cultures sont pratiquées dans le milieu suivant : PO₄H₂K, 3 g ; NaCl, 0,5 g ; NH₄Cl, 1 g ; PO₄Na₂, 12 H₂O, 15 g ; SO₄Mg, 0,2 g. Glucose, 4 g ; H₂O q. s. p. 1 000 cm³.

2) SOURCES DE RAYONS X ET γ

On utilise comme source de rayons X, un tube Holweck à anticathode de molybdène qui fonctionne sous une tension de 37 kV. Le rayonnement est filtré par 0,05 mm d'aluminium. La longueur d'onde moyenne est de 0,9 Å correspondant par conséquent à des photons d'environ 15 keV. L'intensité du courant qui alimente le filament du tube peut être réglée entre 40 mA et 1,5 mA. Le débit du tube est modifié en proportion.

Les récipients dans lesquels sont placées les suspensions bac-

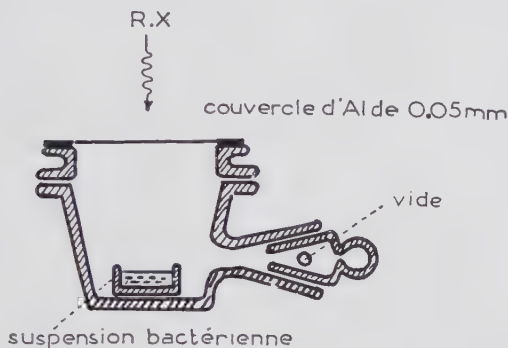


FIG. 1. — Boîte en verre pyrex, à couvercle d'aluminium destinée à l'irradiation dans le vide.

tériennes sont, soit des cuves de verre pyrex de 20 mm de diamètre, soit des plaques de plexiglas creusées en verres de montre peu profonds. Dans les premières on place 0,5 cm³ de suspension et dans les secondes 0,3 cm³. Le rapport surface-volume est par conséquent très considérable, ce qui assure une oxygénation satisfaisante. Dans tous les cas, les bactéries irradiées sont prélevées dans un tube ayant séjourné dans la glace fondante plusieurs minutes auparavant. L'irradiation des bactéries dure tout au plus 2 à 3 mn, sauf indication contraire. La densité de la suspension bactérienne irradiée est de l'ordre de 10⁸ bactéries par cm³.

L'étude de l'influence de la tension d'oxygène sur la radiosensibilité des bactéries est faite en plaçant la suspension dans une boîte en verre pyrex dont le couvercle est constitué par un anneau de verre rodé fermé par une feuille d'aluminium de 0,05 mm d'épaisseur (fig. 1). On retire l'oxygène en reliant cette boîte à une pompe à vide qui permet d'obtenir une pression de

l'ordre de 10^{-2} atm. L'anoxie est contrôlée à l'aide d'une solution de sulfate ferreux irradiée dans les mêmes conditions.

La source de rayon γ est soit du radio-cobalt, soit du radium filtré par 0,5 mm de platine.

Les doses sont exprimées en roentgens. Dans le cas du rayonnement mou, on a tenu compte de l'affaiblissement du faisceau par absorption, et on a pris la valeur moyenne.

3) SOURCE DE RAYONS ULTRAVIOLETS

Pour les irradiations à l'aide de rayons ultraviolets, on dilue les bactéries au centième dans le milieu minéral mentionné ci-dessus. La source des radiations est une lampe germicide à vapeur de mercure à basse pression, dont l'émission est en majeure partie constituée par la radiation de 2 537 Å. Les doses reçues à la surface de la suspension sont déterminées à l'aide d'un dosimètre à cellule de sélénium (Latarjet, Morenne et Berger, 1953).

4) LA TECHNIQUE DES ÉTALEMENTS EST LA SUIVANTE :

Les bactéries sont diluées dans des tubes à hémolyse contenant 3 cm³ de bouillon additionné d'agar à 0,75 p. 100 et maintenu en surfusion à 46 °C. On verse le tout dans des boîtes de Pétri contenant du milieu gélosé à 1,7 p. 100.

Les bactéries survivantes sont dénombrées par les colonies qu'elles forment ; les phages et les bactéries induites par les plages qui apparaissent en présence de 0,5 cm³ de la souche sensible K12S.

II. — ACTION DES RAYONS X ET γ (MARCOVICH, 1956)

1) SURVIE DE K12S

Le nombre de bactéries de la souche non lysogène K12S, sensible au phage λ , capable de former des colonies, décroît exponentiellement avec la dose (fig. 2 et 3). La radiosensibilité de cette souche est la même, qu'elle soit irradiée en période de croissance exponentielle ou qu'elle soit depuis plusieurs heures en phase stationnaire. Le caractère exponentiel de la relation dose-effet se vérifie jusqu'à une dose qui laisse 10^{-4} bactéries survivantes (fig. 18). En fait elle se trouve validée aussi loin que l'expérience peut être poursuivie dans l'échelle des doses, c'est-à-dire jusqu'à 10^{-7} survivants. Dans tous les cas, quelle

que soit la dose, les colonies formées par les bactéries qui survivent à l'irradiation apparaissent dans les mêmes délais et possèdent la même taille que celles du témoin non irradié. Il

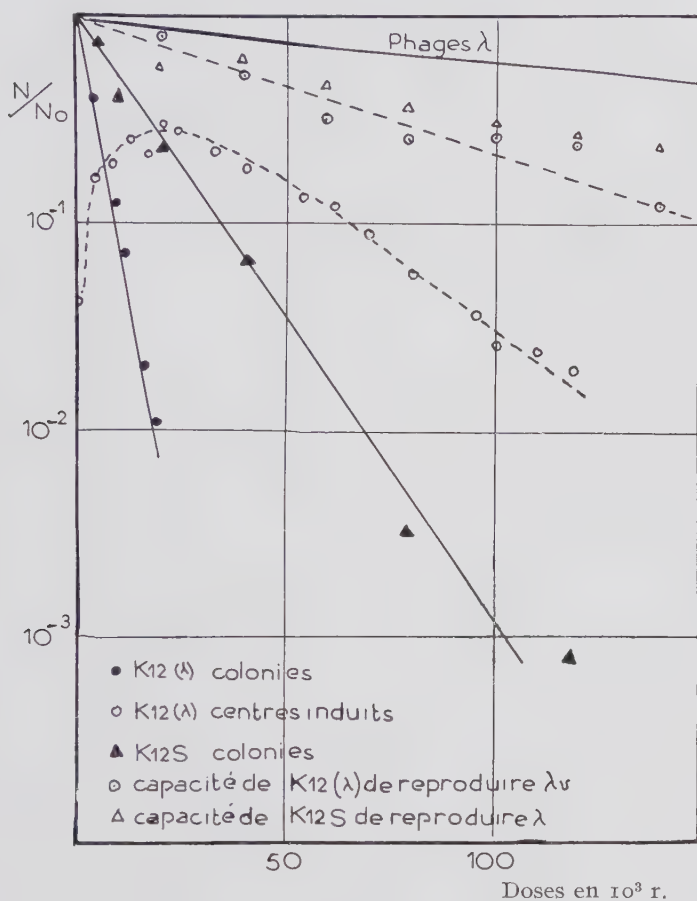


FIG. 2. — Courbes d'induction et de survie de K12(λ).
 Courbe de survie de K12S.
 La courbe de survie du phage λ est donnée à titre comparatif.

existe un contraste manifeste avec le cas des bactéries soumises aux rayons ultraviolets dont le développement se fait avec un retard d'autant plus grand que la dose utilisée est plus forte. La dose qui tue 63 p. 100 des bactéries est de 9 000 r.

2) SURVIE DE K12(λ)

La loi de décroissance du nombre de bactéries survivant à l'irradiation en fonction de la dose est également du type exponentiel. Toutefois, la pente de la droite représentative de cette fonction en coordonnées semi-logarithmiques est plus grande et témoigne de ce fait d'une radiosensibilité plus élevée que celle de K12S. La dose létale de 63 p. 100 est ici de $2,5 \cdot 10^3$ r.

Jacob (1952) a montré que si on carente une culture de bactéries lysogènes, son aptitude à être induite par l'irradiation décroît considérablement. Tel est le cas de K12(λ). Les courbes de survie se confondent alors avec celle de K12S.

3) COURBE D'INDUCTION DE K12(λ) ÉTUDIÉE PAR ÉTALEMENT DIRECT DES BACTÉRIES SUR LA SOUCHE INDICATRICE

La proportion des bactéries qui sont induites à produire des bactériophages en fonction de la dose, varie de la manière suivante. A partir du taux normal, elle commence à s'élever, passe par un maximum qui est de l'ordre de 20 à 30 p. 100 de l'effectif irradié, puis décroît exponentiellement (fig. 2). L'étalement direct des bactéries induites ne permet pas de connaître avec une précision suffisante la portion ascendante de la courbe d'induction. Ceci peut se faire à l'aide d'une technique indirecte qui sera décrite ultérieurement.

4) « CAPACITÉ » DE K12S ET DE K12(λ) DE PERMETTRE LA MULTIPLICATION DES BACTÉRIOPHAGES

Les rayons X peuvent affecter, dans les bactéries, avant qu'elles ne soient infectées, le système dont dépend la synthèse des virus. La fraction des bactéries capables d'effectuer ces synthèses est une fonction exponentielle décroissante de la dose (fig. 2). La « capacité » n'est pas influencée par l'état physiologique des bactéries (période de croissance exponentielle ou phase stationnaire).

Le mutant virulent de λ^+ , λ_v , possède la propriété de pouvoir infecter K12(λ) et de s'y multiplier. On peut par conséquent comparer la « capacité » des bactéries irradiées de permettre la multiplication des phages infectants, à celle des bactéries pareillement traitées, d'assurer la maturation des phages à partir du prophage induit.

Sur la figure 2 on voit que la radiosensibilité de la « capacité » pour les phages infectieux des souches K12(λ) et K12S est la même, et que cette « capacité » témoigne d'une radio-résistance

supérieure à celle de la « capacité » à l'égard des phages induits. Comme il se pourrait que dans le cas de l'induction, le supplément de radiosensibilité soit lié à la présence du matériel génétique du phage, des bactéries K12S ont été infectées avec λ , puis irradiées 5 mn plus tard. La « capacité » a été trouvée identique à celle des bactéries irradiées seules.

Dans l'altération, par les rayons X, de la « capacité » des bactéries à reproduire les phages infectieux, la perturbation de l'adsorption ne saurait jouer qu'un rôle négligeable, car une dose de 400 000 r ne lui fait subir aucune modification notable.

Rouyer et Latarjet (1946), Anderson (1948), Benzer et Jacob (1953), ont montré que les processus impliqués dans la division cellulaire pour donner lieu à un clone bactérien sont plus radiosensibles que ceux dont dépendent les réactions de synthèse des bactériophages. Les résultats exprimés sur la figure 2 sont en accord avec ces constatations.

5) COURBE DE SURVIE DU PHAGE λ (fig. 3)

La radiosensibilité des virus est d'une manière très générale, bien inférieure à celle des cellules bactériennes. La dose qui

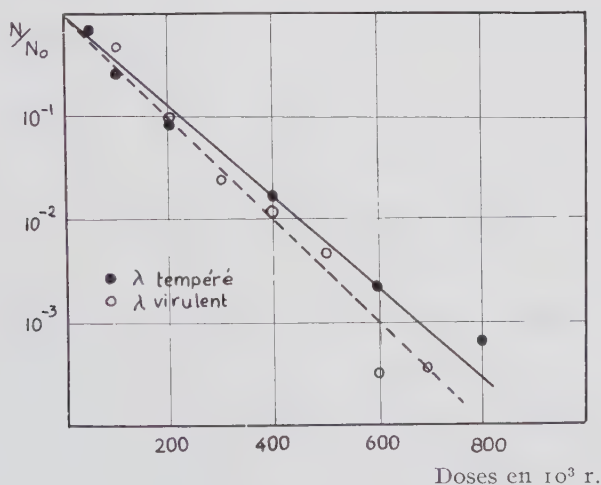


FIG. 3. — Courbes de survie du bactériophage λ^+ et de son mutant virulent λ_v , irradiés en bouillon.

correspond à une mortalité de 63 p. 100 chez ce virus est de 110 000 r environ, pour des irradiations effectuées dans du bouillon, avec un débit élevé. Ces conditions suppriment prati-

quement l'effet indirect. Aux erreurs expérimentales près, cette sensibilité paraît être la même pour le phage tempéré et pour son mutant virulent. L'analyse effectuée ici est insuffisamment précise pour confirmer ou infirmer un récent résultat d'Epstein et Englander (1954) selon lequel le mutant virulent serait légèrement plus résistant que le phage tempéré.

6) ÉTUDE DE LA PÉRIODE LATENTE

a) *K12S infecté par λ* . — La période latente, définie par le temps qui sépare le moment de l'infection de celui de la lyse des premières bactéries, est de 45 mn. Sa constance est remar-

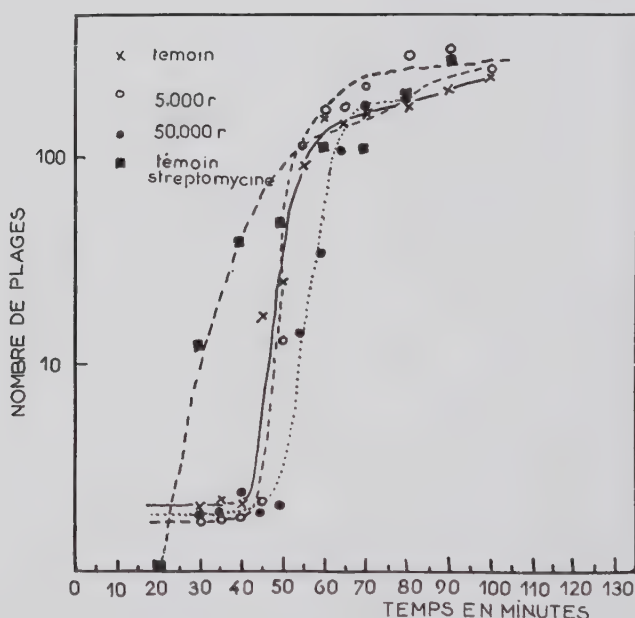


FIG. 4. — Des bactéries K12S sont infectées par le phage λ^+ . On laisse adsorber pendant 2 mn à 37 °C, puis on inactive les phages libres à l'aide d'un sérum spécifique. On dilue, puis on étale à divers moments sur la souche indicatrice. La courbe en tirets concerne la mise en évidence de phages mûrs intracellulaires au moyen de streptomycine.

quable ; elle garde la même valeur si les bactéries sont préalablement irradiées avec des doses élevées. Le rendement en bactériophages est de l'ordre de 120 à 150 particules de virus par bactérie, en moyenne (fig. 4). Les doses les plus fortes utilisées (500 000 r) laissent moins de 1 p. 100 des bactéries capables

d'assurer la multiplication des virus, et la probabilité pour une bactérie de survivre est de 10^{-15} .

b) $K12(\lambda)$ induit. — La durée de la période latente de $K12(\lambda)$

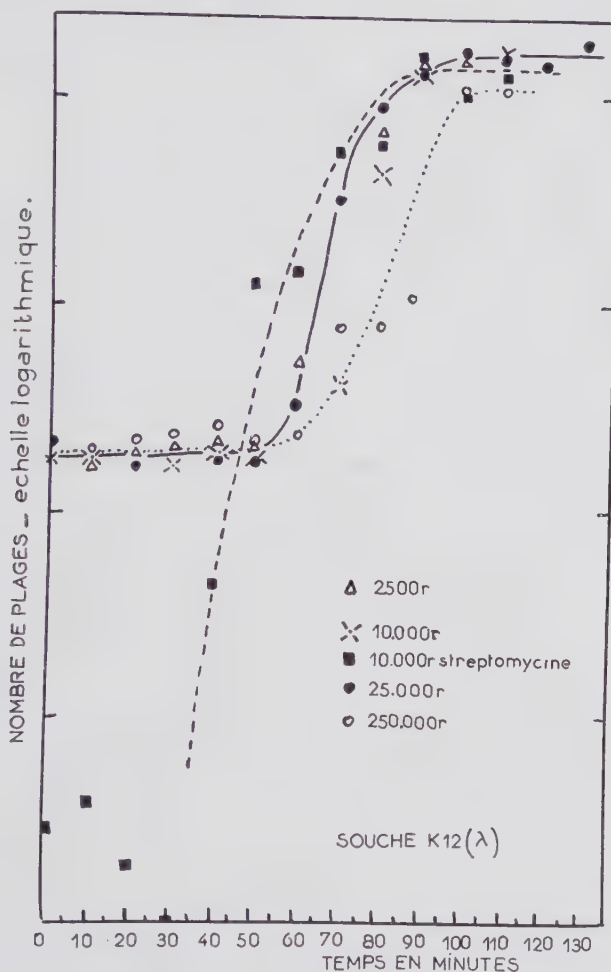


FIG. 5. — Des bactéries $K12(\lambda)$ sont induites par les rayons X. On étale à divers moments en présence de la souche indicatrice. La courbe en tirets concerne l'analyse des phages mûrs intracellulaires à l'aide de streptomycine.

induit par les rayons X est de 55 mn. Sa constance est, comme celle de $K12S$ infecté, très grande puisqu'une dose de 250 000 r, qui laisserait seulement 10^{-5} bactéries capables d'assurer l'évolution du prophage en phage mûr, et moins de 10^{-20} bactéries

capables de se diviser, respecte sa durée ainsi que le rendement moyen des bactéries en virus. Ce rendement est de 120 à 150 particules infectieuses par bactérie induite (fig. 5).

L'étude de l'action des rayons ultraviolets conduit à des résultats sensiblement différents. La période latente et le rendement en phages sont affectés par des doses élevées d'une manière très accusée (voir plus loin).

c) *Évolution des phages mûrs intrabactériens.* — Des bactériophages, qui infectent une bactérie sensible, subissent une éclipse pendant la première moitié de la période latente. Ce fait, mis en évidence par Dœrmann (1948) avec les phages T2 et T1, existe également chez les bactéries lysogènes induites par les rayons ultraviolets (Jacob, 1954). Dans ces études, on utilise le cyanure de potassium pour bloquer les synthèses bactériennes. Les processus qui aboutissent à la lyse peuvent néanmoins se produire, et le contenu des bactéries être libéré dans le milieu. Contrairement à ce que l'on observe avec les rayons ultraviolets, les bactéries irradiées par les rayons X se lysent moins bien en présence de KCN. Or, il est apparu au cours de ces recherches, que des substances toxiques (streptomycine, chloroforme, acide osmique, formol) si elles tuent les bactéries, possèdent également la propriété de favoriser leur lyse. La streptomycine est, parmi ces corps, celui qui donne les résultats les plus constants, et dont la maniabilité est la plus grande. Elle est totalement dépourvue d'action sur le phage, et celui-ci peut être titré sur une souche streptomycine-résistante.

Des bactéries ayant été induites par une dose de 20 000 r, on suit leur lyse optique au moyen d'un photomètre enregistreur de Bonet-Maury. A divers moments de la période latente, on ajoute l'antibiotique. La lyse qui en résulte est d'autant plus rapide et accusée que la streptomycine est ajoutée plus tard au cours de la latence (fig. 6). En outre, en titrant le nombre de phages recueillis dans ces conditions, on arrive à déterminer le moment de l'apparition des premières particules infectieuses intrabactériennes. Pour ce faire, on a utilisé la même technique que celle de Dœrmann. La concentration de l'antibiotique dans les tubes de lyse est de 200 γ /cm³. Le même résultat peut être obtenu avec des doses beaucoup plus faibles inférieures à 20 γ /cm³.

Dans les figures 4 et 5 ont été tracées, en fonction du moment de l'adjonction de la streptomycine, les courbes du titre en phage dans le milieu de suspension. On voit que les premiers virus apparaissent dans des bactéries infectées, ainsi que dans des bac-

téries induites, une quinzaine de minutes avant la fin de la période latente. Le même fait s'observe avec les rayons ultraviolets. Ces observations sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle la différence dans la durée des périodes latentes des bactéries induites par les deux rayonnements tient à une étape

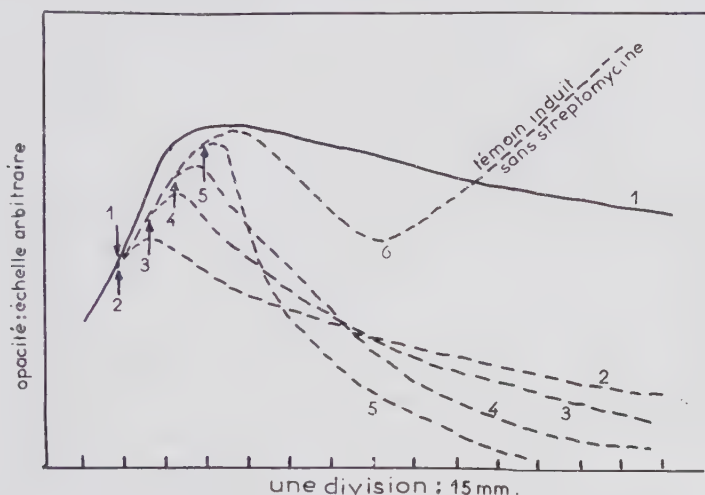


FIG. 6. — Courbes photométriques de la lyse K12(λ) induit par 20 000 r. De la streptomycine est ajoutée à divers moments de la période latente à raison de 2 000 γ/cm^3 ($\uparrow$).

initiée par les rayons ultra-violet, qui ne sont pas obligées de traverser les bactéries infectées ou celles qui ont reçu les rayons X (Tobin, 1953).

La streptomycine est sans influence sur le système phage-bactérie où la souche microbienne est streptomycine-résistante. La période latente et la lyse sont les mêmes, que l'antibiotique soit présent ou non.

7) ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LES BACTÉRIES INDUITES PAR LES RAYONS X

On sait que l'induction des bactéries lysogènes est reversée par la lumière visible de courtes longueurs d'onde. Ce fait observé chez *Pseudomonas pyocyanea* (1954), existe également chez K12(λ). Cependant, aucune restauration ne se produit si l'induction se fait à l'aide de rayons X (Latarjet et Marcovich, résultats inédits). Si on administre la lumière à dose suffisante, on entrave la synthèse des phages mûrs. Les bactéries induites

ne se lysent pas. L'opacité de la culture induite et illuminée, ne baisse pas, à l'inverse de celle gardée à l'obscurité. Ce fait a pu faire penser à l'existence d'une photorestauration (Latarjet, 1951).

A cause de la brièveté de la durée de vie des substances formées par l'irradiation dans le milieu, on pourrait se demander si, en appliquant la lumière plusieurs minutes après les rayons X, on n'intervenait pas à une étape trop tardive. Pour éliminer cette éventualité, des bactéries K12(λ) ont été placées dans une cuve en pyrex exposée par le fond à une lampe à vapeur de mercure à haute pression. L'irradiation était effectuée *en même temps* que l'illumination. Aucune modification de la sensibilité des bactéries à l'irradiation n'a été décelée. Pour les très fortes illuminations, les actions léthales de la lumière s'ajoutaient à celles des rayons X.

De même, la lumière administrée avant l'irradiation est inopérante.

8) ÉTUDE DE LA PORTION ASCENDANTE DE LA COURBE D'INDUCTION CHEZ K12(λ) (MARCOVICH, 1954)

Quand on étale sur une boîte de Pétri une suspension de bactéries lysogènes K12(λ) en présence de la souche indicatrice, il se forme un certain nombre de plages qui ont une double origine, d'une part les phages libres dans le milieu, d'autre part la lyse des bactéries à l'intérieur des clones lysogènes développés sur le milieu solide. Il existe en moyenne, dans les conditions expérimentales ci-dessus, un phage libre pour 50 bactéries. En outre, la fréquence des plages dues aux colonies lysogènes elles-mêmes est de l'ordre de $1/20$ bactériesensemencées. Il en résulte que la détection d'un pourcentage de bactéries induites inférieur à 10 p. 100, est très imprécise si on utilise la méthode d'étalement direct. Afin de pousser l'investigation vers des inductions beaucoup moins nombreuses, il faut éliminer au mieux les bactériophages issus de la lyse spontanée, et entraver le développement des bactéries qui n'ont pas été induites. La technique utilisée tient compte de ces remarques.

Désignons par N_r et N_s le nombre de phages libres, N_r dans la suspension irradiée après éclatement des bactéries induites, N_s dans la suspension témoin non irradiée, soumise par ailleurs aux mêmes conditions. Le nombre N_i de particules de virus qui résulte de l'induction est $N_i = N_r - N_s$.

Si la fréquence des inductions est faible, N_r est voisin de N_s , car N_i est petit. La précision des mesures sur N_r dépend, par

conséquent, de N_s que l'on a intérêt à réduire autant que possible. Le taux des phages libres issus de la lyse naturelle peut être diminué en se fondant sur les remarques suivantes :

La période latente, on l'a vu plus haut, est de 55 mn. Elle est définie par le moment où apparaissent les premières lyses. En fait, toutes les lyses ne sont pas synchrones, et se font, dans leur majorité, entre la 65^e et la 80^e minute consécutives à l'exposition aux rayons X. Par contre, les phages issus de la lyse spontanée apparaissent continuellement au cours de la croissance bactérienne. L'effectif de ces derniers, dans le milieu de culture, est la somme de tous les phages qui sont apparus dans l'intervalle de temps qui sépare le début de la multiplication bactérienne, du moment où est effectué le titrage. Si l'on ajoute au milieu de culture du sérum antibactériophage, avant que les bactéries induites éclatent, on inactive les virus libres sans porter atteinte à ceux qui sont contenus dans les bactéries non encore lysées. En arrêtant l'action de l'antisérum par dilution, juste avant la lyse, on recueille la majeure partie des virus issus de l'induction, et seulement ceux qui seront issus de la lyse spontanée après ce moment.

La technique expérimentale adoptée est la suivante : un échantillon de culture de K12(λ), ayant atteint de 2 à $3 \cdot 10^9$ bactéries par cm^3 depuis 1 h, est dilué au centième dans du bouillon maintenu dans de la glace fondante. Cette suspension est irradiée, puis placée dans un bain-marie à 37 °C. Après 55 mn, on ajoute du sérum antiphage et on le laisse agir pendant 10 mn. On dilue dans du tampon additionné de 200 γ/cm^3 de streptomycine. On laisse 15 à 20 mn à la température du laboratoire et on étale en présence d'une souche indicatrice avec 200 λ de streptomycine par boîte de Pétri. On a vu plus haut, que vers la 65^e minute, la teneur en phages intracellulaires est à son maximum. C'est par conséquent, dans ces conditions que les chances sont les meilleures de recueillir le plus grand nombre de virus issus de l'induction. En opérant selon cette technique, on abaisse le nombre des virus issus de la lyse spontanée de façon très appréciable. Cependant, étant donné le nombre de manipulations mises en jeu, on ne peut connaître directement le pourcentage des bactéries induites. Pour cela, il faut comparer, par l'emploi de doses suffisamment élevées, la fréquence des bactéries induites par la méthode directe décrite plus haut, au nombre de plaques obtenues par la méthode indirecte qui vient d'être exposée.

La précision de cette technique est étroitement liée à la qua-

TABLEAU I
Induction de K12(λ) par les rayons X de 15 keV

Dose en r	0,3	0,6	1	1,8	3,2	5,6	10	18	32	100	320	1 000	3 200
R	1,13	1,01	1,15	1,010	1,123	1,52	2,30	4,0	8,5	22	114	290	675
R	1,11	1,23	1,56	1,78	2,26	2,89	4,33	6,9	13,8	39,4	164	415	850
R	1,35	1,53	1,45	1,54	1,78	2,05	4,70	5,3	11,2	39,5	161	359	
R		1,22	1,23	1,19	1,32	1,50	2,35		7,6				
R	0,84	1,02	0,96	1,55	1,75	1,95	2,75		7,7	14,7	76	151	
R	1,05		1,4		1,98		4,20		17,4	53	171	536	
R			1,3		1,41		3,50		10,2				
Moyenne : R	1,095	1,20	1,295	1,41	1,69	1,99	3,58	5,35	10,9	33,7	141	351	764
Log. R	0,04	0,08	0,11	0,15	0,23	0,30	0,55	0,73	1,04	1,53	2,15	2,55	2,88
Log. R - 1...	2,98	1,3	1,47	1,61	1,84	1,99	0,41	0,64	0,99	1,51	2,15	2,55	2,88

Valeurs de $R = \frac{N_r}{N_s}$ mesuré au cours de sept expériences indépendantes.

lité de l'antisérum ainsi qu'à la fréquence des lyses « naturelles ». Les nombres, toutes conditions paraissant égales, peuvent varier d'un facteur 2 mais restent cohérents à l'intérieur d'une même expérience.

La méthode ci-dessus permet, non seulement d'analyser avec une grande précision la relation entre la fréquence des bactéries induites et la dose, mais elle est aussi susceptible d'être

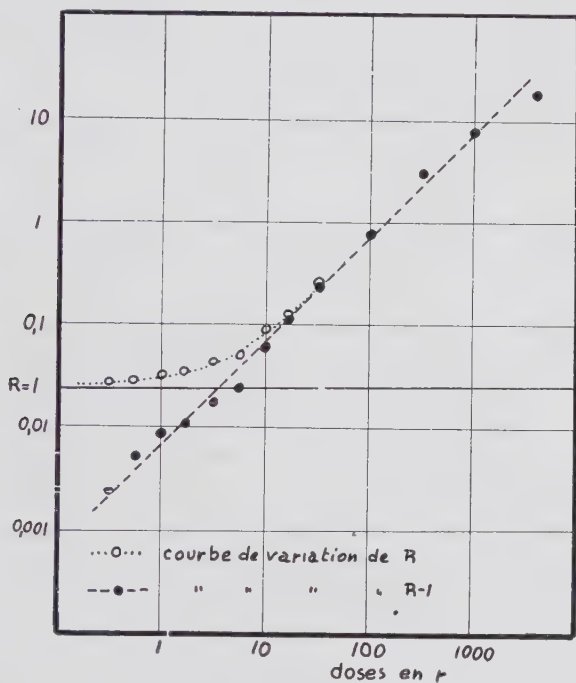


FIG. 7. — Pourcentage de bactéries induites en fonction de la dose. Dosages des phages libres. Rayons X de 15 keV.

appliquée à l'étude comparée de l'efficacité inductrice des rayons X et gamma, à l'exploration de la relation de réciprocité, entre le temps et le débit, à l'étude de l'influence de la température, grâce au fait que les irradiations peuvent durer un temps suffisamment court pour que les conditions physiologiques puissent être considérées comme constantes.

a) *La relation dose-effet.* — α) *Action des rayons X de 15 keV.* — Soit N_r/N_s le rapport du nombre de plages dans l'échantillon irradié à celui du témoin. Quand les doses diminuent, il tend vers

l'unité. Le rapport $\frac{Ni}{Ns} = \frac{Nr}{Ns} - 1$ est la quantité à considérer pour établir la relation dose-effet, car au cours d'une même expérience Ns est une quantité fixe et Ni dépend de l'induction. Dans le tableau I, sont inscrites les valeurs du rapport Nr/Ns déterminées au cours de sept expériences indépendantes. La figure 7 représente la courbe de variation de Nr/Ns , ainsi que celle de Ni/Ns déduite de la précédente, en fonction de la dose.

La représentation log/log est adoptée ici en raison de l'amplitude de l'intervalle des doses ainsi que de celle de la fréquence

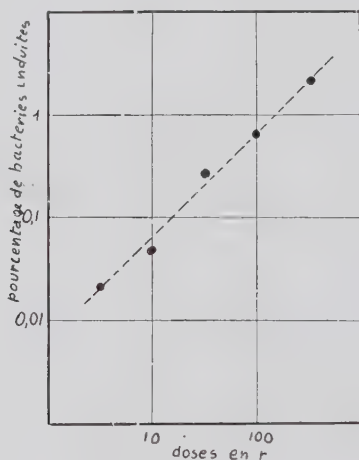


FIG. 8. — Action inductrice des rayons γ du radio-cobalt.

des inductions, qui varie entre 0,01 p. 100 et près de 20 p. 100. La courbe représentative de la variation de Ni en fonction de la dose est une droite de pente égale à 1. On peut conclure, en raison de la petitesse de effets impliqués, que l'induction de K12(λ) par les rayons X ressortit à un processus à un seul événement.

β) *Action des rayons λ du ^{60}Co .* — Des expériences analogues à celles du tableau I ont été pratiquées à l'aide des rayons γ du ^{60}Co . On a pris soin de se placer dans des conditions aussi voisines que possibles des précédentes. En particulier, le même antisérum a été utilisé.

En raison des déductions que l'on sera amené à faire, étant donné la distribution des ionisations et la dimension des bactéries, une précision particulière a été recherchée pour la dose

de 3,2 r. Les résultats sont consignés dans le tableau II, et la courbe représentative, figure 8.

TABLEAU II
Induction de $K_{12}(\lambda)$ par les rayons γ du ^{60}Co

Dose en r	3,2	10	32	100	320
R	1,83	2,35	9,4	29,1	60,5
R	2,36	3,80	16,2	45,5	155
R	1,14	3,20	8,5	21,8	83
R moyen	1,77	3,10	11,3	32,1	99,5
Log R	0,24	0,49	1,05	1,51	1,996
$R - 1$	0,77	2,10	10,3	31,1	98,5
Log $R - 1$	1,89	0,32	1,02	1,49	1,990

Valeurs de R mesurées au cours de cinq expériences indépendantes avec une dose de 3,2 r :

$$1,74 - 1,72 - 1,85 - 2,50 - 1,54.$$

Valeur moyenne de R pour les huit valeurs expérimentales : 1,85.

Étude de l'induction de $K_{12}(\lambda)$ par les rayons γ .

Valeurs de N_r/N_s en fonction de la dose.

De la confrontation des valeurs moyennes de R obtenues avec les deux rayonnements pour la dose moyenne de 3,2 r, il résulte que la différence observée n'est pas statistiquement significative avec un seuil de confiance de 5 p. 100.

Dans l'intervalle des doses étudiées, les deux courbes dose-effet sont pratiquement confondues. On en conclut que l'efficacité inductrice des rayons X de 15 keV et des rayons gamma du radio-cobalt est la même.

* * *

On a vu plus haut que dans la culture de $K_{12}(\lambda)$ il existe près d'un phage libre pour cinquante bactéries. En supposant que, la période latente et le rendement moyen en bactériophages des bactéries subissant la lyse naturelle sont les mêmes que ceux de la lyse induite par les rayons X, on est conduit à assimiler une probabilité de lyse de 10^{-4} à 10^{-5} par bactérie, par génération. Or, si on extrapole vers les faibles doses la droite de la figure 7, on trouve que ce taux correspondrait à une irradiation de l'ordre de 10^{-2} à 10^{-3} r par génération. En outre, en estimant à 10^{-4} r la dose quotidienne due aux ionisations naturelles,

c'est-à-dire à celles qui proviennent de la radio activité ambiante et de la radiation cosmique, on trouve que chaque génération bactérienne de 28 mn recevrait une dose de 10^{-6} r. A moins d'attribuer aux ionisations naturelles des propriétés singulières qu'il est difficile d'imaginer *a priori*, ou de supposer que vers les très faibles doses l'efficacité inductrice peut augmenter, on se doit de conclure que les sources d'ionisations naturelles ne sauraient être tenues pour responsables que pour une part très faible, dans le déterminisme des lyses « spontanées ».

En dépit de ces raisons d'obtenir *a priori* un résultat négatif, deux cultures ont été placées pendant 24 h, l'une à la surface du sol, l'autre dans une chambre souterraine à 30 m de profondeur, chambre dans laquelle les ionisations naturelles sont huit fois moins abondantes qu'à la surface. De plus, des cultures ont été effectuées sous une épaisseur de 2 cm de plomb afin de produire une quantité optimum de gerbes. Au cours de ces expériences, il n'a été trouvé aucune différence significative entre les taux de phages existant dans les diverses cultures.

b) *Le facteur temps.* — Le débit peut être modifié au niveau de la suspension bactérienne, en faisant varier la distance à la source de radiations, ou en modifiant l'intensité du courant qui alimente le filament du tube de rayons X. La durée de l'exposition est déterminée pour les temps courts, inférieurs à 10 s, par un disque de plomb fenêtré de 4 mm d'épaisseur, tournant à 1 t/s. Son diamètre étant de 32 cm, une fente large de 1 cm fournit une exposition de 10^{-2} s. Les résultats ont été inscrits dans le tableau III.

TABLEAU III

Influence du débit sur l'induction de K12(λ)

Débit en r/mn	6.10 ⁴	6.10 ³	6.10 ²	60	6	0
Nr.	1,816	1,834	1,909	2,311	2,239	—
Ns.						804

On voit que le nombre de bactériophages Nr, libérés par les bactéries irradiées avec une dose de 10 r, est le même dans tous les cas, et que le facteur de réciprocity est au moins égal à 10^4 .

Si l'on donne cette même dose en dix fois 10^{-3} s à 1 s d'intervalle, en utilisant une fente de 1 mm de large, on trouve 2 205 phages.

Le tube Holweck n'est pas utilisable pour des débits inférieurs à 6 r/mn. Puisque l'efficacité inductrice des rayons X et γ

est la même, il est légitime d'utiliser pour les très faibles débits, une source de radium. Celle-ci, filtrée par 0,5 mm de platine, est placée à 15 cm de la suspension de bactéries. Elle administre dans ces conditions 0,06 r/mn. Il faut, par conséquent, une exposition de 10^4 s pour obtenir une dose de 10 r. En outre, afin de maintenir les conditions constantes, les bactéries sont conservées dans la glace fondante pendant toute la durée de l'irradiation.

Plusieurs expériences indépendantes ont été effectuées avec les rayons γ et les rayons X avec une exposition de 10^{-2} s dans les conditions qui viennent d'être indiquées. Leurs résultats sont consignés dans le tableau IV.

TABLEAU IV

Induction comparée de 10 r donnés en 10^{-2} et en 10^4 s

Rayons X :

Nr . . .	1 816	567	1 385	3 410	10 427 ⁺
Ns . . .	804	232	302	675	2 638
Nr/Ns .	2,26	2,44	2,58	5,03	3,96

Valeur moyenne de $Nr/Ns = 3,65$

Rayons γ :

Nr	610	659	8 875 ⁺
Ns	301	143	2 638
Nr/Ns	2,03	3,97	3,38

Valeur moyenne de $Nr/Ns = 3,13$

On raccorde les deux types d'expériences entre eux en considérant, non les valeurs absolues des effectifs de phages dénombrés, mais le rapport Nr/Ns du nombre de phages des échantillons irradiés à celui des échantillons témoins. On a marqué d'une croix les nombres obtenus au cours d'une même expérience comparative.

En se reportant aux nombres des tableaux I et II, on voit que les doses de 10 r fournies par des expositions d'une dizaine de secondes, donnent pour Nr/Ns des valeurs comparables à celles du tableau IV.

La conclusion de ce qui précède est que, pour la souche K12(λ), le phénomène de l'induction est indépendant du débit, pour un facteur de variation au moins égal à 10^6 .

c) *Action de la température.* — En raison de la sensibilité du test décrit ci-dessus, les irradiations peuvent être effectuées

avec de très faibles doses, qui ne nécessitent que de courtes expositions, de l'ordre de quelques dizaines de secondes. On peut alors estimer que la température à laquelle sont portées les bactéries, n'a pas le temps de produire des modifications physiologiques susceptibles de retenir sur leur radiosensibilité. Dans le tableau suivant sont groupés les résultats de trois expériences indépendantes, qui utilisent des doses inductrices de 25 et de 50 r.

TABLEAU V

Action de la température sur l'induction de K12(λ)

TEMPÉRATURES		25 r		50 r
N_r	0 °C	36	361	1 602
	10 °C	35	575	1 242
	20 °C	22	515	1 912
	30 °C	42	468	1 121
N_s	0 °C	1,4	43	122

Nombre N_r de phages libérés par des suspensions bactériennes irradiées à différentes températures. N_s , nombre de phages trouvés dans la suspension témoin maintenue à 0 °C.

D'après les nombres inscrits dans le tableau précédent, on peut conclure, qu'entre 0 °C et 30 °C, la température est sans influence sur l'efficacité inductrice des rayons X. A noter que des cultures témoins, soumises pendant 10 mn à diverses températures jusqu'à 45 °C, libèrent le même nombre de phages.

III. — ACTION DES RAYONS ULTRAVIOLETS

Une étude, parallèle à la précédente, a été menée avec les rayons ultraviolets, dans le but d'avoir des indications sur l'activité des excitations moléculaires par rapport à celle des ionisations. On sait, en effet, que les radiations ionisantes déterminent, en même temps que des ions, la formation de molécules excitées. On tient habituellement pour négligeable l'influence de ces dernières. Hutchinson (1954) a montré qu'il en était bien ainsi en utilisant les électrons d'énergies diverses, pour inactiver des couches monomoléculaires de sérum-albumine. Des électrons, ayant une énergie supérieure à une dizaine d'électron-volts (correspondant au potentiel d'ionisation des atomes du milieu), sont trente fois plus efficaces que des électrons de 2,2 eV qui ne donnent que des excitations.

1) COURBES DE SURVIE DE $K_{12}S$ ET DE $K_{12}(\lambda)$; INDUCTION DE $K_{12}(\lambda)$

La courbe d'induction de $K_{12}(\lambda)$ est semblable à celle

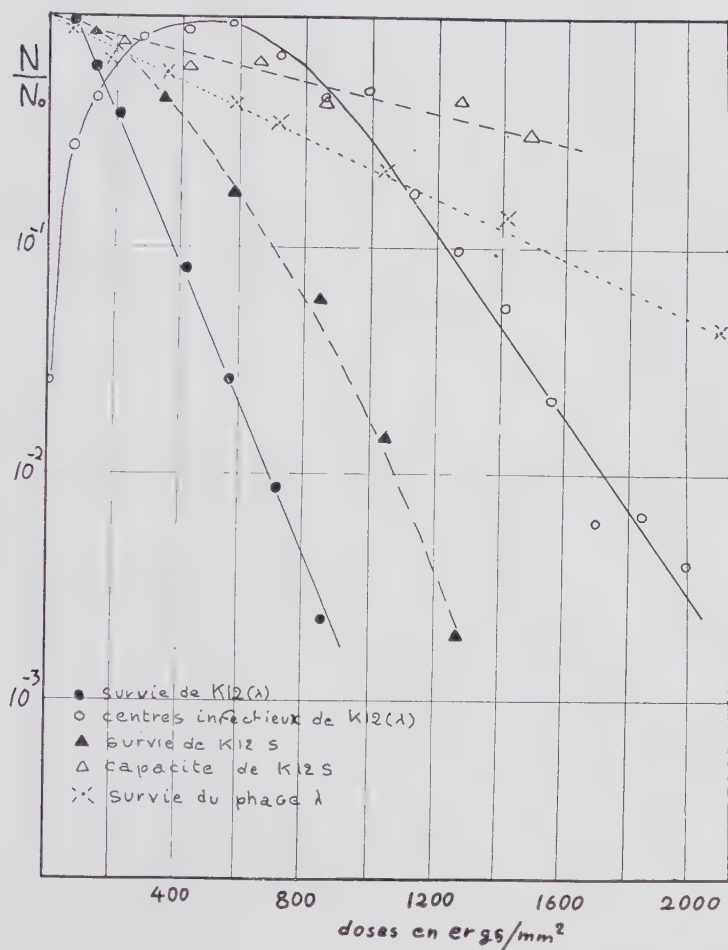


FIG. 9. — Des bactéries de la souche $K_{12}(\lambda)$ sont cultivées en bouillon jusqu'à une densité de $3 \cdot 10^9$ bactéries/ cm^3 . On les dilue à 1 p. 100 dans de l'eau physiologique et on les irradie avec des doses croissantes de rayons U.V. On évalue comme pour les rayons X le nombre de bactéries survivantes et celui des induites. On a également représenté les courbes de survie et de « capacité » de $K_{12}S$ pour le phage λ .

trouvée par Weigle et Delbruck (1951). Toutefois, sa portion descendante a une pente sensiblement plus grande, en valeur absolue, que celle de la survie du bactériophage λ , contraire-

ment aux résultats de ces auteurs (fig. 9). En coordonnées semi-logarithmiques, la courbe représentative de cette décroissance est une droite qui s'extrapole au-dessus du point 0. La résistance de K12S aux rayons ultraviolets est beaucoup plus grande que celle de K12(λ), et l'allure de sa courbe de survie est nettement

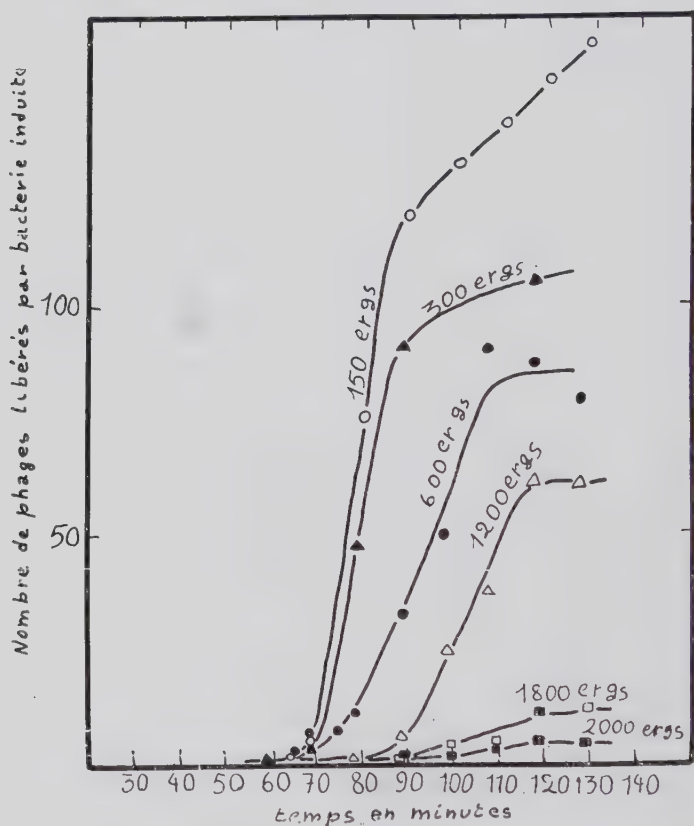


FIG. 10. — Période latente et rendement moyen des bactéries induites par différentes doses de rayons U.V.

différente. On ne peut, sur les données de la figure 9, ni sur celle de plusieurs expériences ayant donné des résultats superposables, déterminer si la différence de sensibilité entre les deux souches est due exclusivement aux inductions. A noter que le développement des colonies issues de bactéries survivantes à des doses élevées, est très fortement ralenti par rapport aux témoins.

La « capacité » de K12S de reproduire le phage λ infectieux, est plus radiorésistante que celle de K12(λ) de permettre la maturation des phages induits.

2) ÉTUDE DE LA PÉRIODE LATENTE

Quand on induit K12(λ) avec les rayons ultraviolets, la lyse commence après une période latente d'autant plus longue que la dose est plus forte (fig. 10). Sa durée minimum, de l'ordre de 65 mn, excède de 10 mn celle de l'induction par les rayons X, et de 20 mn celle de K12S infecté par λ . Un fait analogue a été décrit chez *Pseudomonas pyocyanea* (Tobin, *loc. cit.*). Parallèlement à l'allongement de la latence, le rendement moyen des bactéries en phages diminue dans des proportions considérables. Il passe de 150 à une valeur de quelques unités pour des doses de l'ordre de 2 000 erg/mm². Il convient de rapprocher ces perturbations apportées par l'irradiation aux réactions qui conduisent à la synthèse des phages, de celle que subit la multiplication des bactéries K12S qui survivent à une forte irradiation.

3) ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION INTRACELLULAIRE DES PHAGES MURS

Les premiers phages mûrs apparaissent, dans les bactéries induites, une vingtaine de minutes avant la fin de la période latente (fig. 11). Il a été montré plus haut, que la streptomycine détermine l'ouverture des bactéries contenant des bactériophages mûrs, sitôt qu'elle est ajoutée à une suspension de bactéries lysogènes non résistantes, et ayant subi un choc inducteur. La figure 12 montre que la lyse optique se produit dans les minutes qui suivent l'adjonction de l'antibiotique, et que cette lyse est d'autant plus accusée que l'on se trouve plus près de la fin de la période latente.

4) ÉTUDE DE LA PORTION ASCENDANTE DE LA COURBE D'INDUCTION

Pour étudier la partie ascendante de la courbe d'induction, on a employé la méthode, décrite ci-dessus, fondée sur le titrage des bactériophages libérés par les bactéries induites. Elle est utilisable aux doses inférieures à 200 ergs, qui n'affectent ni la période latente ni le rendement moyen en phages. Dans la figure 13, ont été représentés, en fonction de la dose, les pourcentages de bactéries induites au cours de trois expériences indépendantes, dans un intervalle de doses allant de 6 erg/mm²

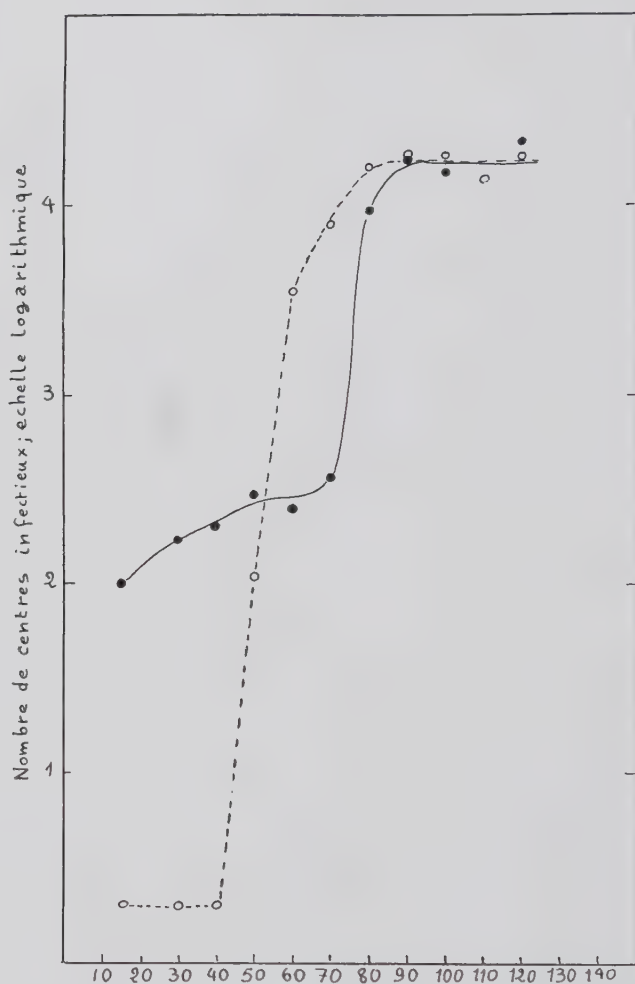


FIG. 11. — Induction de K12(λ) par U.V. (300 erg/mm²).
Analyse intracellulaire à l'aide de streptomycine.

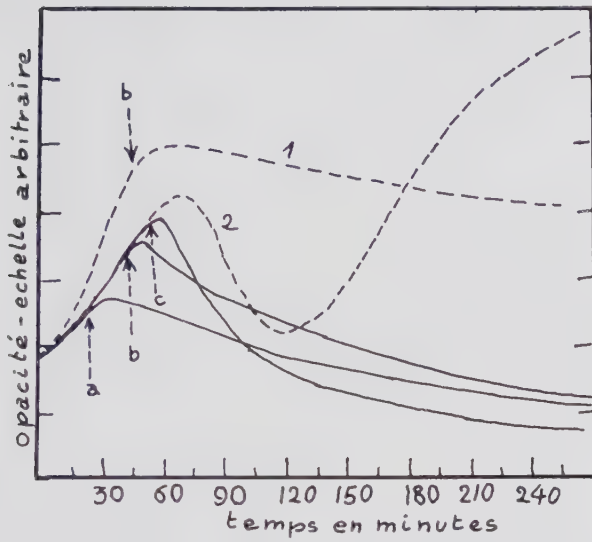


FIG. 12. — Courbes de lyse optique de *K12(λ)* induit par 300 erg/mm^2 de rayons U.V. A divers moments de la période latente on ajoute $200 \gamma/\text{cm}^3$ de streptomycine ($\uparrow$).

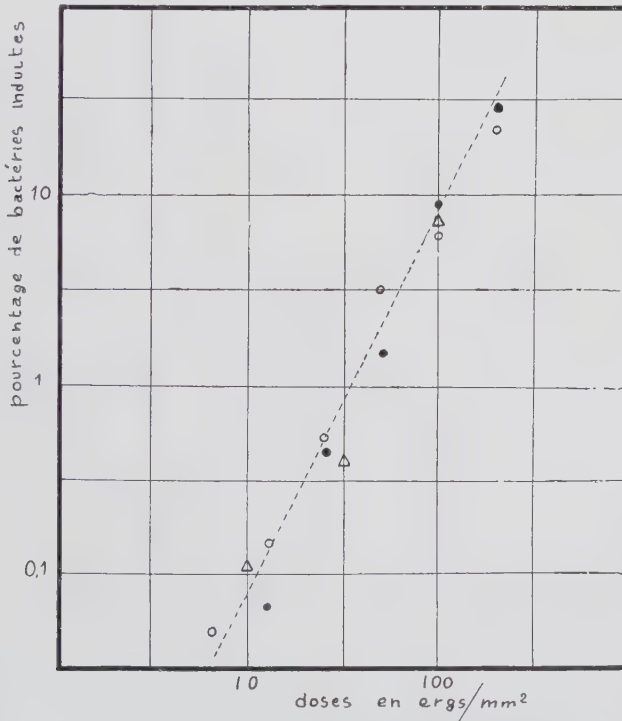


FIG. 13. — Pourcentage de bactéries *E. coli K12(λ)* induites par des doses croissantes de rayons U.V. (dosage des phages libres).

à 200 erg/mm². La courbe obtenue est une droite de pente égale à 2, dans la représentation en échelle logarithmique adoptée ici. On peut donc écrire :

$$\log \frac{N}{N_0} = 2 \log KD ;$$

d'où :

$$\frac{N}{N_0} = KD^2 + C^{te} \quad (12)$$

où $\frac{N}{N_0}$ est la fraction des bactéries induites par une dose D .

On sait que dans un processus qui dépend d'au moins deux fois le même événement (atteinte d'une cible unique par deux projectiles distincts), la relation qui lie le nombre de ces événements (ici c'est la dose) à l'effet observé est :

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kD} \left[\frac{(kD)^2}{2!} + \frac{(kD)^3}{3!} + \dots \right] \quad (2)$$

Si kD est petit (dose faible), e^{-kD} est voisin de 1, et $(kD)^2$ est grand devant les autres termes de la série, d'où :

$$\frac{N}{N_0} \neq \frac{k^2}{2} D^2. \quad (3)$$

En coordonnées logarithmiques, la courbe représentative de la relation (3) est une droite de pente 2. On aboutirait à la même conclusion si le processus envisagé dépendait de deux événements distincts (par exemple atteinte de deux cibles distinctes par deux projectiles différents). La relation entre la dose et l'effet est dans ce cas :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-kD})^2. \quad (4)$$

Si kD est petit, cette expression s'écrit :

$$\frac{N}{N_0} \neq k^2 D^2 \quad (5)$$

On retrouve au facteur 1/2 près la même relation que précé-

demment. D'après la courbe expérimentale, on ne peut décider entre les deux éventualités.

5) LE FACTEUR TEMPS

On peut modifier le débit du rayonnement au niveau de la préparation, en faisant varier la distance de celle-ci à la source, et en réduisant la surface émettrice par un diaphragme.

Les irradiations ont été effectuées dans de petites cuves de pyrex plongées dans la glace fondante. Dans le tableau VI sont donnés les résultats observés avec une irradiation de 17,5 erg/mm², administrés dans des temps variant entre 10⁻¹ et 10⁴ secondes.

TABLEAU VI

Le facteur temps dans l'activité inductrice des rayons U.V.

Temps en secondes .	0,1	1	10	100	1 000	10 000
<i>Nr</i>	470	511	333	439	397	340
<i>Ns</i>	97					

Nombre de phages libres (*Nr*) comptés dans une suspension de K12(λ) irradiée, et dans la suspension témoin (*Ns*).

Il est manifeste, d'après ces résultats, que l'action inductrice des rayons ultraviolets n'est pas significativement modifiée par une variation du débit de l'ordre de 10⁵ fois.

6) ACTION DE LA TEMPÉRATURE

Il est aisé de fixer la température d'une suspension bactérienne dans un intervalle de 0 à 40 °C, et de l'irradier pendant un temps suffisamment court, pour que les conditions physiologiques puissent être considérées comme constantes. Dans le tableau VII, figurent les résultats d'irradiations effectuées à différentes températures, avec une dose de 30 erg/mm² administrée en 30 s.

TABLEAU VII

Induction de K12(λ) par les rayons U.V. à différentes températures

Température	0 °C	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C
<i>Nr</i>	1 128	876	1 171	1 045	1 095
<i>Ns</i>	54 à 15 °C				

Nr nombre de bactériophages dans l'échantillon irradié.

Ns nombre de bactériophages dans l'échantillon témoin.

IV. — DISCUSSION

1) RAYONS X

A) Les relations dose-effet, trouvées au cours des expériences décrites plus haut avec le système E. coli K12, sont toutes du type exponentiel. Si N_0 est le nombre initial d'organismes, si N est le nombre d'individus tués ou inactivés par une dose D , on a $N/N_0 = 1 - e^{-\alpha D}$ où α est l'inverse de la dose qui affecte 63 p. 100 des organismes ($\alpha D = 1$). Ces résultats témoignent de l'homogénéité des populations bactériennes et virales quant à l'action des rayons X. S'il en était autrement, si par exemple diverses formes de sensibilité coexistaient, soit par variabilité génétique, soit parce que dans le cycle de division certaines phases sont plus radiosensibles, la relation dose-effet ne serait pas exponentielle. La courbe représentative, au lieu d'être rectiligne, présenterait une succession de segments, dont la longueur serait liée à la fréquence des divers types en présence.

En radiobiologie, la nature exponentielle de la relation dose-effet est un phénomène général, en ce qui concerne l'action léthale sur les bactéries. Or, on sait (Witkin, 1951) que ces cellules sont multinucléées, ou du moins, que leur matériel génétique pourrait contenir les déterminants héréditaires à plusieurs exemplaires. On devrait, par conséquent, s'attendre à observer d'une manière beaucoup plus fréquente des relations dose-effet non exponentielles.

Si l'on admet avec Lea (*loc. cit.*), que l'effet léthal est essentiellement de nature génétique, et s'apparente à la production d'une mutation, on est obligatoirement conduit à conclure que cette mutation est de caractère dominant. Or, Latarjet et Ephrussi (1949) ont montré que la courbe de survie des levures diploïdes est de nature sigmoïde, tandis que celle des haploïdes est exponentielle. Dans le premier cas, l'inactivation se fait selon un processus à deux coups, donnant à penser que la mort de ces cellules pourrait résulter de l'induction de mutations léthales récessives, dans la région de doses explorée. On pourrait admettre que l'allure exponentielle de la courbe de survie chez K12S et chez K12(λ), plutôt qu'une mutation léthale dominante, reflète l'atteinte d'un système indispensable à la division cellulaire, mais non lié au matériel génétique.

B) Dans le tableau VIII, figurent les propriétés étudiées dans le système lysogène d'E. coli K12. On y a porté les doses qui

correspondent à une atteinte de 63 p. 100, c'est-à-dire celles pour lesquelles il se produirait un événement par individu, en supposant que ces événements sont distribués selon une série de Poisson.

TABLEAU VIII

*Radiosensibilité comparée
de diverses propriétés du système lysogène d'E. coli K12(λ)*

PROPRIÉTÉ	DOSE 63 p. 100 en r $\times$ 1 000
K12(λ) (survie)	2,5
Induction	15
Inactivation de la capacité de K12(λ) induit	25
K12 S (survie)	9
Capacité de K12S pour λ^+ , λ_{φ} , et de K12(λ) inductible ou non pour λ_{φ}	65
λ^+ et λ_{φ} (survie)	110

On sait que l'acquisition d'un prophage inductible entraîne un accroissement de la radiosensibilité des bactéries. La comparaison de K12(λ) et de K12S le montre clairement.

Soit $1 - e^{-\alpha D}$ la probabilité de tuer une bactérie lysogène avec une dose D de rayons X. On peut écrire l'égalité :

$$1 - e^{-\alpha D} = 1 - e^{-\beta D} + 1 - e^{-\gamma D} - (1 - e^{-\beta D})(1 - e^{-\gamma D}) + \varphi(D) \quad (6)$$

où β caractérise la souche sensible, γ l'induction mesurée par la fraction des bactéries de la souche lysogène irradiée qui forme des plages sur la souche indicatrice. $\varphi(D)$ est une fonction de la dose constamment égale à 0, si chaque bactérie qui a été l'objet d'un choc inducteur produit des phages mûrs. On aurait dans ce cas :

$$e^{-\alpha D} = e^{-(\beta + \gamma)D} \quad (7)$$

d'où :

$$\alpha = \beta + \gamma \quad (8)$$

En se reportant au tableau VIII, on voit que cette relation n'est pas validée par la souche K12(λ). Par conséquent, certaines bactéries induites meurent sans produire de phages. Latarjet et Miletic (1953), qui ont observé un effet de cette sorte, l'ont désigné sous le nom d'inductions abortives. La correction à apporter à la relation 8, en raison de ce phénomène, correspond à une dose de 63 p. 100 d'inductions abortives de 4 500 r.

Ainsi, avec la souche K12(λ) peut-on mettre en évidence deux sortes de réponses à l'irradiation :

- des inductions productives,
- des inductions abortives.

On verra plus loin que ces dernières sont sensibles à la tension d'oxygène, réalisée dans le milieu au moment de l'irradiation.

a) L'interprétation la plus simple de la forme de la courbe d'induction est la suivante : deux événements distincts sont susceptibles d'affecter la production de phages mûrs. L'un est

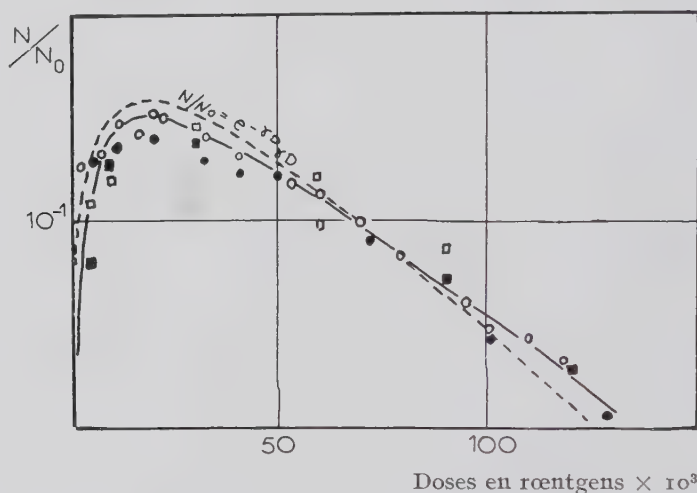


FIG. 14. — Comparaison de la courbe théorique $N/N_0 = e^{-\alpha D} \cdot \alpha D$ avec la courbe tracée sur les points correspondant à plusieurs expériences indépendantes.

le déclenchement des processus qui font entrer le prophage dans sa phase végétative, l'autre concernerait l'endommagement de la « capacité » des bactéries induites de mener à leur terme les synthèses de phages mûrs.

La courbe aurait pour formule :

$$N/N_0 = (1 - e^{-\gamma D}) e^{-kD} \quad (9)$$

où N/N_0 est la fraction des bactéries irradiées qui produisent des phages mûrs, D la dose, γ et k des coefficients qui caractérisent respectivement l'induction et son inactivation. On admet implicitement dans ce système, que l'activation du prophage peut se faire théoriquement à la suite d'un ou de plusieurs événements.

b) Si une telle hypothèse est légitime en ce qui concerne un

effet léthal, elle ne semble pas acceptable d'une manière aussi simple, pour le phénomène de l'induction, dans lequel le système activé par l'irradiation pourrait être détruit si des ionisations trop nombreuses intervenaient.

Si n est le nombre d'événements à partir duquel une induction avorterait, la fraction des bactéries induites en fonction de la dose est celle où a lieu un nombre d'événements compris entre 1 et $n - 1$, d'où :

$$N/N_0 = e^{-\alpha D} \left[\alpha D + \frac{(\alpha D)^2}{2} + \dots + \frac{(\alpha D)^{n-1}}{(n-1)!} \right]. \quad (10)$$

Dans la figure 14 a été représentée la courbe de régression tracée sur les points expérimentaux obtenus au cours de plusieurs essais indépendants. La courbe théorique, qui cadrerait le mieux avec ces résultats, est celle qui correspondrait à la survenue d'un événement, mais d'un seul, soit :

$$N/N_0 = e^{-\alpha D} \cdot \alpha D. \quad (11)$$

Toutefois, pour séduisante que soit cette hypothèse, et pour satisfaisant que soit l'accord enregistré, les conclusions auxquelles on parvient ne doivent être acceptées qu'avec prudence.

2) RAYONS U.V.

D'après les courbes des figures 9 et 13, les phénomènes produits par l'irradiation du système lysogène utilisé ici apparaissent plus complexes avec les rayons ultraviolets, qu'avec les rayons X. En effet, ces derniers ne donnent lieu qu'à des relations dose-effet exponentielles.

L'efficacité de l'action léthale des deux rayonnements sur le phage λ , peut être comparée, puisque dans les deux cas les effets observés ressortissent à des phénomènes, à un événement. En revanche, pour les bactéries, la signification des relations « à coups multiples » est pour l'instant peu claire, en ce qui concerne l'action léthale, puisque la mort peut résulter de lésions très diverses. L'induction fait exception. Il s'agit en effet d'une réponse à l'irradiation bien spécifique, obéissant à un processus à deux coups. C'est pourquoi il apparaît légitime de tenter une comparaison quantitative entre les actions inductrices des rayons X et ultraviolets.

a) *Inactivation du phage λ .* — La dose incidente, qui laisse 37 p. 100 de survivants, est de 600 ergs avec les rayons ultra-

violet, et de 10^5 r environ avec les rayons X de 0,9 Å, agissant essentiellement par effet direct.

Dans les conditions expérimentales réalisées ici, les rayons X, à la dose de 1 r mesurée à la surface de la suspension, libèrent une énergie d'un peu moins de 90 erg/cm³ dans l'eau, ce qui donne, en tenant compte de la densité du phage, une valeur de 130 erg/cm³.

En ce qui concerne l'absorption des rayons U.V., on peut considérer que, dans le phage λ, elle a lieu en majeure partie dans l'acide nucléique. Les valeurs des coefficients d'absorption de ces acides, admises autrefois (Lavin et coll., 1938) paraissent quelque peu élevées. De récentes mesures, effectuées sur un principe transformant du pneumocoque, c'est-à-dire sur un acide désoxyribonucléique bactérien, donnent comme valeur à ce coefficient ⁽¹⁾ $6 \cdot 10^4$ cm⁻¹ pour la longueur d'onde de 2 537 Å (Latarjet et Ephrussi-Taylor : communication personnelle). En adoptant cette valeur, on trouve qu'un flux de 600 erg/mm² libère une énergie de $3,6 \cdot 10^9$ erg/cm³ dans les phages irradiés.

A effet léthal égal, les rayons X sont, par conséquent, énergétiquement près de $\frac{3,6 \cdot 10^9}{1,3 \cdot 10^7} = 280$ fois plus efficaces que les U.V.

b) *L'induction*. — L'action inductrice des rayons X et U.V. ne peut se comparer comme précédemment, en confrontant les énergies libérées pour la production d'une même fréquence de bactéries induites. Avec les rayons X la relation dose-effet est exponentielle, tandis qu'elle ressortit à un processus à deux événements avec les U.V. Il faut donc comparer les doses de chacun de ces rayonnements qui produisent le même nombre d'événements. Ainsi, la dose de rayons X qui induit 63 p. 100 des bactéries serait-elle à rapprocher de la dose d'U.V. qui en induit 26,4 p. 100. Avec ces doses, il se produit, en moyenne, un événement par bactérie. Ce sont respectivement les doses de 15 000 r et de 300 erg/mm².

Le raisonnement suivi est le même que celui effectué pour le phage λ.

Le spectre d'action des rayons U.V. dans l'induction de K12(λ) semble indiquer que le chromophore est une nucléoprotéine (Franklin, 1954). En adoptant le même coefficient d'absorption que pour le phage, soit $6 \cdot 10^4$ /cm⁻¹, on trouve que 300 erg/mm² correspondent à une énergie libérée de

(1) Le coefficient k étant défini par l'expression $I/b_0 = e^{-kI}$, où I est l'intensité transmise par une épaisseur de 1 cm et I_0 l'intensité initiale.

$1,8 \cdot 10^9 \text{ erg/cm}^3$. 1 5000 r fournissant de leur côté $1,95 \cdot 10^6 \text{ erg/cm}^3$.

Le rapport des énergies est donc :

$$\frac{1,8 \cdot 10^9}{1,9 \cdot 10^6} = 9,2 \cdot 10^2$$

Les rayons X seraient, par conséquent, près de 1 000 fois plus efficaces que les U.V.

c) *Le rendement quantique.* — α) *Phage λ .* — L'évaluation de la probabilité d'action d'un quantum n'est pas aisée, puisqu'elle suppose la connaissance du nombre total de photons effectivement absorbés par un phage. Zelle et Holländer (1954) en ont fait une analyse pour les phages T1 et T2. Les valeurs trouvées sont pour ces deux virus, respectivement de $6,41$ à $6,24 \cdot 10^{-4}$ et de $3,29$ à $2,99 \cdot 10^{-4}$.

Le phage λ est beaucoup plus voisin de T2 que de T1. Cependant, il contient près de trois fois moins de ADN que le premier par particule (Lwoff, 1953). En adoptant pour λ le même coefficient d'absorption que pour T2, et compte tenu de la différence de teneur en ADN, on trouve un rendement quantique de $2,9 \cdot 10^{-4}$.

Pour évaluer ce rendement, on peut recourir à une autre méthode utilisée par Latarjet et Wahl (1945). Admettons que la cible offerte aux rayons X soit précisément le chromophore. Supposée sphérique, son diamètre, d'après les abaques de Lea (1946, *loc. cit.*) serait au moins de $30 \text{ m}\mu$, ce qui donne un volume de $1,41 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$. Ceci correspond (en prenant comme coefficient d'absorption $2,6 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1}$ et puisque 1 erg de lumière ultraviolette de $2\,537 \text{ \AA}$ comporte $1,277 \cdot 10^{11}$ photons) à un rendement quantique de $3,6 \cdot 10^{-4}$.

En prenant pour diamètre $20 \text{ m}\mu$, ce qui correspond à une cible dont on sous-estime le volume au maximum, le rendement est de $1,2 \cdot 10^{-3}$.

Les deux méthodes donnent, par conséquent, des résultats assez comparables ; on peut les tenir pour satisfaisants étant donné les incertitudes attachées à de tels calculs.

β) *L'induction.* — Si on suppose que le diamètre de la « cible » induction est de l'ordre de $100 \text{ m}\mu$, on trouve, en raisonnant comme pour le phage λ , que le rendement quantique, pour la production d'un événement, est de $1,5 \cdot 10^{-4}$, c'est-à-dire qu'il y aurait un photon efficace pour 6 700 absorbés.

Les courbes de la figure 10 montrent que les bactéries induites peuvent être le siège de lésions satellites capables d'entraîner

la maturation d'une fraction plus ou moins importante des phages. Le nombre de ces derniers, produits par une bactérie irradiée, décroît en fonction de la dose, comme si une partie des substances nécessaires à leur édification était rendue inutilisable. Baron (1949) et ses collaborateurs ont observé des phénomènes analogues dans un cas d'adaptation enzymatique. Rappelons qu'avec les rayons X la période latente et le rendement en virus restent inchangés pour des doses considérables, ne laissant qu'une faible fraction des bactéries capables d'assurer la maturation des phages.

Une telle différence entre l'action des rayons X et celle des rayons ultraviolets peut s'expliquer par la quantité d'énergie considérablement plus grande que dissipent ces derniers, pour produire le même effet.

On peut, d'après ce qui précède, tenir pour négligeable l'influence des excitations moléculaires produites entre les ionisations. En effet, près de la moitié de l'énergie libérée par l'absorption des rayons X ou γ se trouve sous la forme d'excitations. Or, on a vu que les rayons U.V., qui ne produisent que des excitations sont près de mille fois moins efficaces que les rayons X.

CHAPITRE II

I. — QUELQUES ASPECTS THÉORIQUES DE LA RELATION DOSE-EFFET

Les travaux qui, depuis la découverte de Müller en 1927 de l'activité mutagène des radiations ionisantes, se sont attachés à déterminer la relation entre la dose et l'effet, montrent tous que la fréquence des mutations géniques induites est proportionnelle à la dose jusqu'aux valeurs les plus faibles : les courbes représentatives de ces relations sont des droites qui s'extrapolent à l'origine des coordonnées. C'est ce que l'on exprime en parlant de relation de proportionnalité entre la dose et l'effet. Les premières études qui ont mis en valeur cette relation sont celles d'Oliver (1930) et de Timofeev-Ressovsky (1939) chez la *Drosophile*. Les données les plus récentes proviennent des travaux de Spencer et Stern (1948). Ces auteurs l'ont étudiée jusqu'à la dose de 25 r. La relation de proportionnalité s'est trouvée validée jusqu'à 50 r inclus. Avec 25 r il existe une déviation par excès liée à des fluctuations importantes du témoin.

Une déviation par excès a été décrite par Bonnier et Lunning (1949) pour la mutation induite de deux loci, *white* et *forked*, de la *Drosophile*. Ce fait, confirmé par Müller et ses collaborateurs (1954), serait lié à une hétérogénéité de la population des cellules germinales, fonction de l'âge de la mouche. Une telle déviation n'infirme pas la validité de la relation de proportionnalité ; elle met seulement en valeur le fait que des facteurs intercurrents peuvent avoir une influence marquante.

En ce qui concerne les cellules de la lignée somatique, la

nature de la relation dose-effet est difficile à préciser. D'une part, les mesures n'ont qu'une précision limitée en raison du nombre relativement restreint d'individus que l'on peut étudier, d'autre part les lésions observées ne sont pas à l'état pur. Il existe, on l'a déjà dit, des interactions complexes qui modifient qualitativement en fonction de la dose et du débit du rayonnement la réponse de l'organisme.

Dans ce qui va suivre on cherchera à montrer comment on pourrait se représenter, d'une façon générale, une relation entre la dose de radiations et l'effet comportant ou non un seuil pour les très petites doses.

1) CAS DE PHÉNOMÈNES ADMETTANT UN SEUIL

Considérons le cas général d'une relation dose-effet avec un phénomène de seuil, c'est-à-dire dans laquelle rien ne se produit au-dessous d'une certaine dose. Cette relation peut s'écrire :

$$\frac{N}{N_0} = f(D) - k \geq 0 \quad (12)$$

où $\frac{N}{N_0}$ est la fraction d'individus qui manifeste l'effet cherché,

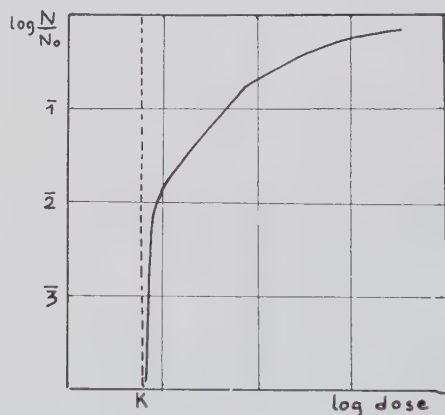


FIG. 15. Exemple de courbe théorique d'une relation dose-effet avec phénomène de seuil.

$$N/N_0 = f(D) - k.$$

$f(D)$ une certaine fonction de la dose, k une constante positive.

La dose seuil se définit comme étant celle pour laquelle on a $f(D) = k$. En coordonnées logarithmiques, la courbe représentative de cette fonction est asymptote à l'abscisse k (fig. 15).

Sur le plan biologique, les interprétations d'une telle relation peuvent être multiples. Par exemple, on peut imaginer que dans la cellule irradiée préexiste une substance qui neutraliserait une quantité donnée de radicaux radioformés, par un mécanisme non compétitif. Tant que cette substance n'est pas épuisée aucun effet n'a lieu. Seules auraient une action les doses capables de produire une quantité de radicaux supérieure à celle que pourrait neutraliser la substance hypothétique.

L'existence d'un seuil suppose par conséquent qu'il y ait, dans le déterminisme de l'effet observé, deux facteurs indépendants. L'un d'eux seulement serait lié aux événements déclenchés par l'irradiation.

On ne connaît pas d'exemples chez les micro-organismes d'un tel phénomène, pas plus qu'on n'en a démontré l'existence chez les organismes supérieurs.

2) EFFETS LIÉS A UN OU PLUSIEURS ÉVÉNEMENTS D'ÉGALE PROBABILITÉ

Les relations dose-effet sont, dans ce cas, de la forme :

$$\frac{N}{N_0} = e^{-\alpha D} \left[\frac{(\alpha D)^n}{n!} + \frac{(\alpha D)^{n+1}}{(n+1)!} + \dots \right] \quad (13)$$

ou :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha D})^n. \quad (14)$$

La relation (13) exprime qu'il faut au moins n fois la répétition du même événement, la relation (14) qu'il faut n événements distincts de même probabilité.

Si la dose est faible, c'est-à-dire si αD est petit, les relations (13) et (14) sont peu différentes de KD^n où K est une constante qui dépend de n et de α .

En traçant les courbes représentatives de ces fonctions en coordonnées logarithmiques, on obtient, pour les faibles doses, une droite de pente égale à n . Il devient dès lors évident qu'une relation du type (13) ou (14), quel que soit n , ne saurait admettre de seuil, ni de changement traduisant une variation de l'efficacité du rayonnement ionisant, si faible soit la dose.

3) RELATIONS DOSE-EFFET LIÉES A LA SURVENUE DE PLUSIEURS ÉVÉNEMENTS DE PROBABILITÉ DIFFÉRENTE

Dans le cas le plus simple de deux événements on a :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha_1 D}) (1 - e^{-\alpha_2 D}). \quad (15)$$

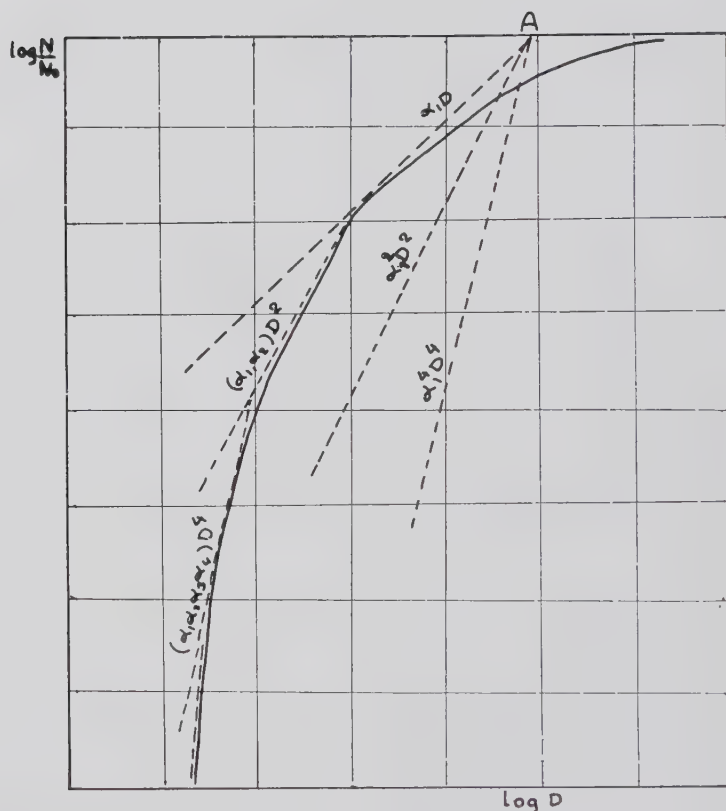


FIG. 16. — Courbe théorique de la relation dose-effet comportant la survenue de plusieurs événements de probabilités différentes.

On voit que si α_1 est petit devant α_2 il existe une région de doses où $1 - e^{-\alpha_2 D}$ est voisin de 1, tandis que $1 - e^{-\alpha_1 D}$ est peu différent de $\alpha_1 D$. La courbe représentative en coordonnées logarithmiques présente aux fortes doses un segment de droite de pente = 1 ; prolongé, ce segment coupe l'ordonnée 100 p. 100 à l'abscisse $1/\alpha_1$. Au-dessous d'une certaine valeur de D on a :

$$1 - e^{-\alpha_2 D} \neq \alpha_2 D.$$

Dans cette région, la courbe représentative est une droite de pente égale à 2 dont le prolongement coupe l'ordonnée 100 p. 100 au point d'abscisse $1/\alpha_1 \cdot \alpha_2$ (fig. 16).

En généralisant, on peut concevoir des relations avec une série de termes en $\alpha_1, \alpha_2, \dots \alpha_n$. Les courbes représentatives sont des lignes brisées à concavité tournée vers les fortes doses.

Il est évident qu'au-dessus d'une dose où la grandeur de l'effet ne permet pas l'approximation assimilant une exponentielle à une fonction du premier degré, la courbe représentative n'est plus rectiligne, mais s'incurve asymptotiquement à l'ordonnée de 100 p. 100.

A moins d'un nombre infini de termes, une relation du type (15) ne saurait, en toute rigueur, comporter de seuil. On peut se représenter ainsi, d'une façon simple, la manière dont pourrait exister une variation de l'efficacité biologique d'un rayonnement en fonction de la dose. Vers les faibles doses, cette efficacité ne saurait jamais être nulle, mais pourrait être suffisamment réduite pour être indiscernable d'un seuil.

Le raisonnement précédent lie le changement d'efficacité de l'action biologique de l'irradiation à la nature même de l'événement produit par l'agent physique. Étant donné que le dégagement d'énergie des radiations est quantifié, l'expression mathématique de la relation dose-effet peut toujours se ramener à un produit de séries de Poisson. *Il résulte de ce qui précède que, si seuls sont impliqués dans l'apparition des effets les événements dépendant du rayonnement, si aucun système de régulation n'existe, on ne saurait admettre de seuil théorique à l'action biologique des radiations ionisantes.*

II. — APPLICATION AU CAS DE L'INDUCTION DE $K_{12}(\lambda)$ PAR LES RAYONS X ET γ

La relation de proportionnalité entre la fréquence $\frac{N}{N_0}$ des bactéries induites et la dose D est selon toute vraisemblance une approximation expérimentale d'une fonction exponentielle. En effet si telle est la relation, on a :

$$\frac{N}{N_0} = 1 - e^{-\alpha D} \quad (16)$$

où N/N_0 est la fraction des bactéries induites et α l'inverse de la dose qui induit près de 63 p. 100 de la population bactérienne,

c'est-à-dire, en supposant les événements élémentaires provoqués par le rayonnement distribué au hasard, la dose qui produit en moyenne un événement efficace par bactérie.

En dérivant on a :

$$d \frac{N}{N_0} = e^{-\alpha D} \cdot \alpha dD \neq \alpha D \quad (17)$$

puisque les rayons X de 15 keV et les rayons γ du radiocobalt ont la même efficacité inductrice malgré la distribution très dissemblable des ionisations et des excitations, il faut en conclure que l'événement efficace est très probablement lié à la survenue d'une ionisation unique.

Le fait que la carence modifie la radiosensibilité de l'induction indique que, selon toutes probabilités, l'induction n'est pas liée à la production d'une ionisation dans une cible déterminée, dans un organite aux limites précises.

Sur les données des tableaux I et II et des figures 7 et 8, on peut étudier le problème suivant : que devient la relation dose-induction pour les doses inférieures à celles qui produisent un effet mesurable ? Peut-on concevoir une déviation à la relation de proportionnalité, que ce soit dans le sens d'une baisse d'efficacité ou dans le sens contraire ?

On a vu que, dans la région des doses accessibles à l'expérience, la relation dose-effet lie cet effet à la probabilité de survenue d'un événement unique. Or une relation de ce type, c'est-à-dire une exponentielle, n'admet pas de déviation, si petites soient les doses. Si, par conséquent, une telle déviation existait, on devrait en conclure que la relation dose-effet n'est pas du type exponentiel. Plusieurs événements indépendants contribueraient à l'induction, selon une loi telle que, dans la région des doses étudiées, tout se passerait comme si un événement unique était seul en cause. En conséquence, le schéma qui apparaît le plus simple est que l'induction soit effectivement liée à la survenue d'un événement unique, lequel est nécessaire mais non suffisant. La réaction de maturation du prophage ne se déroulerait que si d'autres événements se produisaient simultanément. Ceux-ci pourraient agir de deux façons :

a) Ils entraveraient les réactions de maturation du prophage en phage mûr ; par conséquent, l'efficacité inductrice serait d'autant plus basse que leur probabilité de survenir serait plus grande : *ces événements seraient inhibiteurs.*

b) Ils seraient nécessaires au déroulement des réactions d'induction : *ces événements seraient adjuvants.*

Trois cas sont à considérer :

1) La population bactérienne est homogène.
 2) La population bactérienne est hétérogène en ce qui concerne la radiosensibilité de l'aptitude à l'induction, mais l'événement inducteur est unique.

3) La population bactérienne est hétérogène, tant en ce qui concerne la radiosensibilité de l'induction que pour ce qui est du nombre des événements nécessaires au déclenchement des processus de maturation du prophage.

1) CAS D'UNE POPULATION BACTÉRIENNE HOMOGÈNE

La relation (16) s'écrirait :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha D}) k(D). \quad (18)$$

Puisque la relation (16) est en bon accord avec l'expérience il est nécessaire que $k(D)$ soit très voisin de 1, dans l'intervalle des doses étudiées. Étant donné que, les événements produits par l'irradiation sont discontinus à l'échelle de l'ionisation et des excitations moléculaires, on peut résoudre $k(D)$ en une combinaison plus ou moins complexe de séries de Poisson. Si n événements sont requis pour réaliser la condition d'événements inhibiteurs, on peut écrire :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha D}) e^{-\alpha D} \left[1 + \alpha D + \frac{(\alpha D)^2}{2!} + \dots + \frac{(\alpha D)^{n-1}}{(n-1)!} \right] \quad (19)$$

Dans la situation d'événements adjuvants, on aurait :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha D}) (1 - e^{-bD}) \left[1 + bD + \frac{(bD)^2}{2!} + \dots + \frac{(bD)^{n-1}}{(n-1)!} \right] \quad (20)$$

La déviation à la relation de proportionnalité se ferait à des doses d'autant plus élevées que n serait plus grand, de sorte que dans l'analyse de l'action inductrice des doses inférieures à 1 r, le cas le plus défavorable à la détection d'une déviation à la relation (15) serait celui où $n = 1$. En envisageant le cas général où les deux phénomènes *inhibiteurs* et *adjuvants* coexisteraient, on peut écrire :

$$\frac{N}{N_0} = (1 - e^{-\alpha D}) (1 - e^{-bD}) e^{-\alpha D}. \quad (21)$$

a) Pour des doses suffisamment grandes, $1 - e^{-bD}$ est très voisin de 1 ; la déviation est imposée par e^{-aD} . Puisque la relation de proportionnalité se maintient jusqu'à 2 000 r environ et que la précision des mesures est de ± 10 p. 100, on a pour $e^{-aD} \leq 0,9$, $aD \leq 0,12$, soit : $a \leq 1/20\,000$.

La radiosensibilité de l'événement inhibiteur serait près de deux fois plus faible que celle de l'induction, et plus petite que celle de la capacité des bactéries induites par les rayons X d'assurer la multiplication du phage. L'éventualité (a) peut par conséquent être tenue pour négligeable.

b) L'éventualité (b) s'attache directement à l'action des très faibles doses. Le terme $1 - e^{-bD}$ suppose la possibilité que survienne un événement de radiosensibilité b en même temps que celui lié à α , c'est-à-dire que l'on soit dans le cas d'un processus à deux événements d'inégale probabilité. La déviation qui résulterait de son existence entraînerait, alors, une déviation par défaut. Le problème consiste, dans ce cas, en se fondant sur les données expérimentales, à estimer quelle serait sa valeur minimum compatible avec l'observation. On peut effectuer une telle estimation en accordant à b différentes valeurs décroissantes, et déterminer celle au-dessous de laquelle apparaîtrait, dans l'échelle des doses effectivement explorées, une modification significative du rapport Nr/Ns .

Dans le tableau suivant, est consigné le résultat d'une analyse des données du tableau I, utilisant le test t de Student, dans le but de répondre aux questions suivantes :

A partir de quelle dose, $\bar{x}'$, valeur moyenne de Nr/Ns , est-elle différente de 1 avec un seuil de signification de 5 p. 100 ?

Ce rapport diffère-t-il significativement du rapport γ' que l'on pourrait calculer en extrapolant, vers les faibles doses, la droite tracée sur les points expérimentaux correspondant à des doses supérieures à 32 r ?

TABLEAU IX

Doses en r.	0,3	0,6	1	1,8	3,2
Nombre n de mesures . .	5	5	7	5	7
$\bar{x}'$	1,095	1,20	1,295	1,41	1,69
Valeur seuil de t pour n .	2,8	2,8	2,5	2,8	2,5
Valeur de t pour $\bar{x}' = 1$.	2,01	2	4,15	3	4,25
γ'	1,094	1,19	1,31	1,56	2
Valeur de t pour $\bar{x}' = \gamma'$.	—	1	0,2	1,02	1,9

La réponse aux questions ci-dessus est donc :

L'accroissement du nombre de bactériophages dans les échan-

tillons ayant reçu 1 r ou plus, est significatif avec un seuil de confiance de 5 p. 100.

On ne trouve pas de différence significative, avec le même seuil de confiance, entre les valeurs de Nr/Ns mesurées aux doses les plus faibles, et celles déduites de l'extrapolation de la droite expérimentale. Aux doses de 0,3 et 0,6 r, on trouve que l'accroissement de Nr/Ns est significatif avec un seuil de confiance de 10 p. 100. En outre, le fait que les deux points qui correspondent à ces doses sont alignés sur la droite de régression de la figure 7, renforce la validité expérimentale de la relation dose-effet jusqu'à la dose de 0,3 r incluse.

c) *Estimation de b minimum.* — Pour effectuer cette estimation, il faut évaluer dans la relation (21) la valeur du terme $1 - e^{-bD}$ qui déterminerait chez Nr/Ns la modification la plus grande compatible avec les données expérimentales recueillies aux faibles doses. En utilisant le test t de Student auquel on accorde la valeur seuil, on peut écrire :

$$t = \frac{\bar{x}' - 1 - (\bar{x}' - 1)(1 - e^{-bD})}{\frac{S}{\sqrt{n}}} \quad (22)$$

où $\bar{x}'$ est la moyenne de valeur de Nr/Ns à la dose de 1 r.

On trouve, dans ces conditions, que $1/b = 2$. Par conséquent b correspondrait à une propriété dont la radiosensibilité serait telle qu'une dose de 2 r produirait, en moyenne, un événement efficace par bactérie irradiée. Cette sensibilité serait énorme et ne se rapprocherait d'aucun exemple connu. En exprimant le fait en terme de cible on lui trouve un volume de l'ordre de $0,25 \mu^3$. Ce volume serait de l'ordre de grandeur de celui des cellules microbiennes. En effet, les dimensions des bactéries ont été estimées d'après des mesures effectuées à l'aide du microscope électronique dans le service du Dr Bessis. Les mensurations ont porté sur 33 bactéries. Elles ont donné, pour largeur des images bactériennes une valeur très uniforme de $0,66 \mu$ sur une longueur de $1,13 \mu \pm 0,11$.

Si l'on suppose que les corps bactériens sont parfaitement cylindriques, si l'on néglige l'aplatissement de la cellule qui contribue à donner une valeur par excès à la mesure du diamètre et si l'on prend pour valeur de celui-ci $0,7 \mu$ et $1,24 \mu$ pour la longueur, on trouve que le volume bactérien ne saurait excéder $0,42 \mu^3$. La valeur de $0,3 \mu^3$ est bien plus proche de la réalité. Le volume dans lequel devrait se produire le deuxième événe-

ment à action adjuvante serait donc très probablement celui de la bactérie tout entière. Par conséquent, avec 1 röntgen il ne se produirait pas plus d'un événement efficace par bactérie. D'où l'on conclut que cet événement suffit très probablement à lui seul à produire l'induction. Son efficacité est mesurée par le rapport du volume de la cible induction à celui de la bactérie, soit 1/1 000 à 1/2 000. Il en résulte que, quelle que soit la dose, la probabilité d'action d'un événement unique survenant dans la bactérie aura toujours cette valeur.

Le raisonnement ci-dessus ne tient pas compte de la réalité physique du dégagement d'énergie des photons absorbés par la matière, c'est-à-dire de la distribution spatiale des ionisations et des excitations. Il admet implicitement que les événements élémentaires sont distribués de façon homogène quelle que soit la dose et le type du rayonnement. En ce qui concerne les ionisations, il faut des doses suffisamment élevées, de l'ordre de 300 000 r pour que cette approximation soit valable. La superposition des trajectoires électroniques est alors telle, que pour les rayons de 0,9 Å et pour ceux du radiocobalt, on peut considérer la distribution de l'énergie comme homogène. Une telle approximation est inadmissible pour les doses faibles qui font l'objet de cette discussion.

Il serait possible cependant de concevoir une distribution homogène des événements capables de produire l'induction, si l'on suppose par exemple, que la maturation du prophage dépend d'une interaction des bactéries avec les substances formées par l'irradiation. Il faudrait admettre que la durée de vie de ces substances soit suffisamment longue pour leur permettre de diffuser.

α) Cas des rayons X de 15 keV. — Quand des photons de 15 keV sont absorbés par les atomes dont sont constitués les bactéries et le milieu dans lequel elles plongent, ils transmettent presque intégralement leur énergie à des photoélectrons dont le parcours moyen est de l'ordre de 5 μ . Cette énergie se dissipe en créant près de 430 paires d'ions, et des excitations. Avec une dose de 1 r, il se forme dans le milieu irradié près de $1,7 \cdot 10^{12}$ ionisations par cm^3 , lesquelles sont produites par l'absorption de $4 \cdot 10^9$ photons. Par conséquent, cette dose correspond à l'absorption d'un photon dans un volume de 250 μ^3 en moyenne, en supposant que l'épaisseur du milieu irradié soit suffisamment faible pour que l'absorption photonique puisse être considérée comme uniforme.

On peut évaluer la probabilité pour qu'une bactérie soit

traversée par un photoélectron, en utilisant la méthode du volume associé proposée par Lea (*loc. cit.*).

Supposons que la trajectoire des électrons soit rectiligne. On peut lui associer un volume cylindrique, dont la génératrice a pour longueur celle de la trajectoire elle-même, et la section celle du diamètre moyen d'une bactérie supposée parfaitement sphérique. Une bactérie est traversée par un électron si son centre se trouve en un point quelconque du volume associé. On peut donc évoluer la probabilité selon laquelle elle serait traversée par deux trajectoires au moins, en calculant la probabilité avec laquelle deux volumes associés empièteraient l'un sur l'autre.

Le volume associé est égal à $2,5 \mu^3$, pour les rayons X de 15 keV. Pour que deux de ces volumes empiètent, il faut qu'ils soient contenus dans un espace inférieur à leur somme, soit $5 \mu^3$. Par conséquent, la dose à laquelle il y aura en moyenne un empiètement pour deux volumes associés est de l'ordre de 100 r étant donné que leur distribution se fait selon une série de Poisson, il y en aura 37 p. 100 qui seront isolés. Pour une dose de 10 r, il y aura un nombre d'empiètements beaucoup plus petit, de l'ordre de 4 p. 100. Ceci veut dire que s'il fallait les événements contenus dans deux volumes associés, ou plus de deux pour induire une bactérie, à la dose de 100 r, on constaterait déjà une déviation notable à la relation de proportionnalité. Cette déviation serait très grande pour 10 r, bien au-delà des fluctuations les plus grandes observées dans l'étude de la relation dose-effet.

La conclusion qui s'impose, est qu'une trajectoire électronique de 15 keV, c'est-à-dire en définitive un seul photon, suffit pour produire tous les processus de l'induction, avec bien entendu, l'efficacité qui lui est attachée. Toutefois, dans ce raisonnement on ne peut écarter l'hypothèse de la cible adjuvante activée par des ions, discutée ci-dessus, puisqu'une bactérie, traversée par un de ces photoélectrons, est le siège d'une cinquantaine d'ionisations. Cette restriction ne saurait altérer la conclusion ci-dessus, puisque l'énergie la plus faible que peut libérer dans un infini milieu un rayonnement de 15 keV n'est pas l'ionisation ou l'excitation, mais celle attachée à l'absorption d'un photon. Il ne saurait donc pas y avoir de limite à l'action inductrice d'un rayonnement de 15 keV, si faible soit la dose.

b) *Cas des rayons γ du ^{60}Co .* — Le ^{60}Co émet un rayonnement électromagnétique ayant deux composantes, correspondant à deux photons d'une énergie de 1,18 MeV et de 1,32 MeV. Ces

photons, transmettent leur énergie par diffusion Compton à des électrons d'énergie moyenne égale à 0,5 MeV.

Si on appelle E une certaine énergie transportée par des électrons, n_E la fraction de l'ionisation totale produite par des électrons ayant une énergie inférieure ou égale à E , on a :

$$n_E = \frac{E}{T} \left(1 - F_E \frac{T}{E} \right) \quad \text{d'après Gray (1955)}$$

où T est l'énergie de l'électron primaire et F_E l'inverse du pouvoir d'arrêt des atomes du milieu.

On peut ainsi calculer que plus de 60 p. 100 de l'ionisation est formée à partir d'électrons de plus de 100 keV. D'après les tables de Lea (*loc. cit.*), la distance moyenne des paires d'ions, est supérieure à 0,16 μ . Puisque l'épaisseur d'une bactérie est de 0,6 μ , chaque fois qu'un de ces électrons la traverse, il se produit en moyenne quatre ionisations. C'est un nombre bien inférieur à celui fourni par les photoélectrons de 15 keV.

Dans un milieu soumis à un rayonnement γ , on peut estimer entre 20 p. 100 et 30 p. 100 du total de l'ionisation imputable aux photoélectrons. Il en résulte que même s'il fallait, en raison de l'existence de cibles adjuvantes, une cinquantaine d'ionisations dans une bactérie, l'efficacité aux faibles doses de l'action inductrice d'un rayonnement γ ne saurait être inférieure à 20 ou 30 p. 100 de sa valeur aux doses fortes.

Nous allons montrer que cette éventualité est à écarter et que, si faible soit la dose, il ne saurait y avoir une baisse de l'efficacité inductrice des rayonnements ionisants électromagnétiques quelle que soit leur énergie.

Avec une dose de 3,2 r il y a six ionisations par μ^3 en moyenne. Comme les électrons d'énergie supérieure à 100 keV ne contribuent pas pour plus de 50 p. 100 à l'ensemble des ionisations, il ne passe une trajectoire de ces électrons que dans 2 μ^3 en moyenne. Puisque le volume d'une bactérie est de 0,4 μ^3 au plus, la probabilité pour que deux trajectoires de ces électrons la traversent est de l'ordre de 0,25. Par conséquent, s'il fallait les ionisations produites par deux trajectoires électroniques primaires pour induire une bactérie à synthétiser des bactériophages, on trouverait, en tenant compte des électrons de faible énergie, une baisse de l'efficacité inductrice de moitié pour une dose de 3 r. Cette baisse serait manifeste dans nos conditions expérimentales.

Il est donc permis de conclure, que pour les rayonnements

électromagnétiques très durs comme pour les rayonnements mous, il ne saurait y avoir de seuil ou de déviation de l'activité inductrice vers les faibles doses.

Il est aisé d'étendre ces conclusions à toutes les radiations électromagnétiques ionisantes, c'est-à-dire à celles qui ont une énergie supérieure à quelques milliers d'électron-volts.

2) CAS D'UNE POPULATION BACTÉRIENNE HÉTÉROGÈNE EN CE QUI CONCERNE L'INDUCTION, MAIS OÙ CE PHÉNOMÈNE NE RELEVÉ QU'É DE LA SURVENUE D'UN ÉVÉNEMENT UNIQUE.

Il est implicitement admis dans la relation (21) que la population bactérienne est homogène, en ce qui concerne la radiosensibilité de l'induction. Si celle-ci est variable et se distribue en n classes de fréquence $f_1, f_2, \dots, f_n$, on peut écrire :

$$\frac{N}{N_0} = f_1 (1 - e^{-\alpha_1 D}) + f_2 (1 - e^{-\alpha_2 D}) + \dots + f_n (1 - e^{-\alpha_n D}) \quad (23)$$

où $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n$, correspondent à la radiosensibilité de chaque classe. Si les termes en αD sont petits, on a :

$$\frac{N}{N_0} = (f_1 \alpha_1 + f_2 \alpha_2 + \dots + f_n \alpha_n) D = \bar{\alpha} \cdot D \quad (24)$$

$\bar{\alpha}$ représente la radiosensibilité moyenne de la population.

L'existence d'une hétérogénéité dans la population affecterait la relation dose-effet dans la région des doses élevées. Elle ne peut donc pas entraîner de déviation vers les doses faibles.

L'expérience montre que chez K I2(λ) la relation (17) (p. 52) est valable jusqu'à 10 p. 100 de bactéries induites. On peut en tirer la conclusion que la population de ces bactéries est homogène, ou que la variabilité de α est suffisamment réduite pour ne se marquer, ni sur la courbe de survie, ni sur la courbe d'induction.

3) Il est toujours possible, dans un intervalle donné, de résoudre une relation de proportionnalité entre la dose et l'effet en une somme de relations complexes qui se compensent mutuellement. On peut, par exemple, imaginer une population bactérienne dans laquelle l'hétérogénéité porte, non seulement sur les sensibilités individuelles, mais aussi sur la multiplicité des facteurs adjuvants ou inhibiteurs. Une telle complexité pourrait donner lieu à une relation linéaire, à la condition qu'il survienne

dans les bactéries autant d'événements efficaces qu'il y a de facteurs indépendants à modifier. Or, il a été démontré plus haut qu'un seul photon suffit à assurer la linéarité de la relation dose-effet quelle que soit la dose. Il faudrait, dans l'hypothèse discutée ici supposer que cet unique photon soit capable de « tout faire » : la conclusion d'une absence de déviation de l'efficacité inductrice des très faibles doses n'en subsiste pas moins.

III. — LE FACTEUR TEMPS

L'énergie dégagée par l'absorption d'un rayonnement ne dépend pas de son débit. Le facteur temps ne peut intervenir que si les réactions qui mènent de l'effet primaire à la lésion observable sont susceptibles d'être modifiés par des facteurs liés ou non à l'irradiation.

On sait que la réciprocité n'est pas corrélative de la proportionnalité entre l'effet et la dose. Par exemple, dans certains systèmes chimiques où cette proportionnalité existe, l'irradiation détermine la formation de radicaux libres, susceptibles de donner lieu à des réactions en chaîne. Ces radicaux se neutralisent deux à deux, de sorte que le rendement d'une irradiation est d'autant meilleur que le débit du rayonnement est plus petit. Tel est le cas du styrolène, dans lequel le taux de polymérisation est proportionnel à la racine carrée du débit (Chapiro, 1950).

Dans les systèmes biologiques simples, la réciprocité se trouve généralement satisfaite. En ce qui concerne le mutagénèse chez la *Drosophile*, de nombreux travaux ont montré que tel est bien le cas. Parmi les plus récents figurent ceux d'Uphoff et Stern (1949), qui ont vérifié la validité de la réciprocité pour une variation du débit, selon un facteur de 10^5 . Selon Müller (1954 *b*), la confrontation de l'ensemble des résultats obtenus sur ce sujet permet d'étendre la validité de la réciprocité pour une variation du débit de 300 000 fois.

D'autres organismes ont permis d'établir la réciprocité pour des variations de débit importantes. Latarjet (1944) sur le bactériophage dysentérique C16 et le colibacille Y6R a montré que le débit variant selon un facteur de 5 000 à 500 fois était sans influence sur l'effet léthal.

Il est important, pour effectuer une étude sur l'influence du débit de s'assurer de l'invariabilité du matériel biologique pendant l'irradiation. Ceci est facile à réaliser avec les microorga-

nismes ou les gonades. Chez les organismes supérieurs et selon les conditions expérimentales on peut rencontrer des écarts à la réciprocité. Ils sont essentiellement liés à la modification du matériel biologique pendant l'irradiation, du fait de sa longue durée et concernent des modifications non spécifiques. Tel est le cas par exemple de l'érythème et des perturbations de la division.

La validité de la réciprocité dans l'exemple de l'induction peut être étendue, pourrait-on dire, à l'infini. En effet, on a vu plus haut que l'énergie dégagée par l'absorption d'un seul photon suffisait à induire la maturation du prophage en virus mûrs.

Or, le temps nécessaire au dégagement d'énergie liée à l'absorption d'un photon est très court, et il est toujours le même. Quand on fait varier un débit, on ne change pas la vitesse du dégagement de cette énergie, mais on modifie le temps qui sépare l'absorption de deux photons consécutifs.

Dans le cas de l'utilisation de débits très élevés et de doses très fortes, il se pourrait que deux radicaux voisins aient le temps de se recombinaison. On pourrait alors avoir une baisse de l'efficacité : ce phénomène n'a jamais été observé.

IV. — APPLICATION AU CAS DES ORGANISMES PLURICELLULAIRES

1) L'ACTION SUR LA LIGNÉE GERMINALE

L'hypothèse d'événements adjuvants ou inhibiteurs discutée à propos de l'induction est beaucoup plus malaisée à infirmer dans le cas de l'action mutagène sur les cellules sexuelles, en raison d'une part, de leurs grandes dimensions, et d'autre part, des doses relativement élevées (quelques dizaines de roentgens) nécessaires pour obtenir des effets mesurables avec une précision satisfaisante. Il est commode dans ce qui va suivre, d'utiliser le terme de « cibles » en sachant que ce terme ne désigne nullement un organite défini. Sur l'exemple de l'induction de mutations chez la *Drosophile*, qui est à cet égard le mieux étudié, on sait que le cytoplasme n'intervient que pour une part pratiquement négligeable dans l'action mutagène des rayons X puisque l'efficacité de ces derniers est sensiblement la même, qu'il s'agisse de spermatozoïdes ou d'ovules. On peut, comme pour l'induction de K12(λ) à produire des phages estimer quel serait le volume maximum de la cible adjuvante pour une dose donnée. Par exemple celle de 50 r avec laquelle Spencer et Stern

ont montré que la relation de proportionnalité était validée avec une certitude satisfaisante ; on trouve ainsi que la cible adjuvante devrait avoir un diamètre d'au moins 300 m μ , c'est-à-dire un volume de $27 \cdot 10^{-3} \mu^3$.

La cible adjuvante estimée dans ce cas, bien que de dimensions réduites par rapport à celle du noyau, serait encore bien plus grande que les cibles les plus volumineuses mesurées par les rayons X. Notamment elle serait de 10^5 à 10^6 fois plus grosse que les gènes et plus importante que le génome tout entier. Son existence est donc douteuse et il n'est pas déraisonnable de penser que dans l'induction de mutations léthale chez la Drosophile et probablement pour n'importe quelle mutation il n'existe pas de baisse de l'efficacité mutagène vers les faibles doses de radiations ionisantes et encore moins de seuil.

2) L'ACTION DES FAIBLES DOSES DE RADIATIONS IONISANTES SUR LA LIGNÉE SOMATIQUE

a) *L'action léthale.* — Les doses de rayons X appliquées en irradiation totale, nécessaires pour tuer 50 p. 100 des organismes traités, sont assez semblables chez les mammifères. Elles varient entre 200 et 800 r selon l'espèce et la lignée considérée (d'après Patt et Brues, 1954). Elles sont de l'ordre de grandeur de celles qui arrêtent les mitoses pendant un temps plus ou moins long dans certains tissus à régénération rapide. Ainsi par exemple, chez le lapin, la dose léthale 50 p. 100 qui serait de l'ordre de 750 à 825 r suffit à arrêter les mitoses dans les tissus sanguiformateurs, alors qu'elle affecterait peu l'épithélium de revêtement cutané (Bloom W. et Bloom M. A., 1954). La mort de l'animal est due à la lésion du tissu le plus radiosensible. Cependant, les données concernant la relation dose-effet sur les faibles doses sont difficiles à collecter et à interpréter. Les résultats sont fortement influencés par les conditions physiologiques dans lesquelles se trouve l'animal au moment de l'irradiation.

Si l'on considère l'action léthale sur les cellules comme étant liée à une lésion nucléaire dont le type est la rupture chromosomique, on peut concevoir que théoriquement il n'y ait pas de seuil. Cependant, la survie de l'animal dépend étroitement du nombre n de cellules capables de régénérer la fraction des tissus lésés par l'irradiation. Par conséquent dans un tel exemple, la mort surviendra si un certain nombre de ces cellules sont atteintes. Or n , on le conçoit, est très grand. En le sous-estimant fortement et en lui donnant par exemple la valeur de 10^3 on

aurait une courbe à 10^3 événements. Elle serait indiscernable d'une relation avec baisse d'efficacité vers les doses les plus faibles, capables de produire un effet visible. En pratique, la fraction de survivants en fonction de la dose décroît rapidement, ne permettant pas une analyse poussée en raison du nombre d'animaux considérable qui seraient nécessaires.

Un animal est un ensemble de clones qui ont des liens physiologiques rigoureux. La lésion d'un tissu produite par l'irradiation se répercute sur le fonctionnement d'autres organes, et peut entraîner la mort par des désordres qui n'ont rien à voir avec l'irradiation elle-même.

C'est à cause de la complexité des facteurs impliqués dans la radiosensibilité d'un animal irradié en totalité, qu'il serait vain de vouloir établir une relation dose-effet précise aux faibles doses. Ce n'est que pour les irradiations considérables comme celles décrites par Rajewski (1955), que les résultats ont une relative simplicité. Dans ce cas, les animaux meurent tous dans des délais qui dépendent étroitement de la dose.

b) *L'action cancérigène.* — La relation entre la dose et l'effet dans l'induction de cancers par les radiations ionisantes est mal précisée. La complexité des facteurs qui interviennent dans l'éclosion d'un cancer est grande, puisque s'associent la nature du patrimoine héréditaire, du terrain hormonal (Lacassagne, 1932) la possibilité d'un agent viral (comme par exemple le facteur de Bittner). On sait, en outre, l'importance considérable des agents chimiques. Les radiations s'ajoutent à ces causes. Ce sont parmi elles, les plus maniables, les mieux contrôlées. La question de l'action cancérigène des radiations ionisantes, si elle revêt sur le plan théorique une grande importance, se double aussi, en ce qui concerne les faibles doses d'un problème pratique : c'est celui des effets possibles sur les hommes des irradiations auxquelles ils sont actuellement exposés.

L'établissement d'une relation précise entre la fréquence des cancers induits et la dose reçue, est des plus difficiles.

Une étude récente (Wollmann, 1955) a abordé cette question dans le cas des tumeurs du thymus induites chez la Souris, par les rayons X. Cet auteur au lieu de considérer la fréquence des tumeurs effectivement observées, en fonction de la dose, déduit le nombre moyen de tumeurs qui apparaîtraient par souris, en fonction du nombre d'animaux indemnes. La relation obtenue est celle d'un processus à deux coups, se prolongeant sans déviation appréciable jusqu'à des doses de 2 000 r environ.

Puisque les cellules thymiques sont diploïdes, l'interprétation

la plus simple d'un tel résultat serait que ce type de tumeurs malignes pourrait être lié à une mutation récessive d'un gène de la lignée de souris considérée.

L'efficacité d'action cancérigène varie également selon les conditions. Les expériences de Kaplan (1949, 1951) ont manifestement montré l'efficacité de l'irradiation totale dans l'induction de leucémies, comparée à celle de l'irradiation partielle. L'existence d'une lésion inflammatoire infectieuse (Lacassagne et Vinzent, 1929) ou irritative (Burrows, Mayneord et Roberts, 1937) favorise considérablement l'action cancérigène des rayons X. On sait de même que les radio-cancers surviennent plus volontiers sur des territoires fortement altérés par l'irradiation elle-même. Une étude récente (Simpson et coll., 1955), portant sur les suites éloignées du traitement radiothérapique de l'hypertrophie du thymus chez l'enfant, montre que les doses relativement faibles allant de 50 à 1 500 r déterminent un accroissement notable de la fréquence des leucémies, des cancers thyroïdiens, après une latence de plusieurs années.

Les doses les plus faibles pour lesquelles une action cancérigène a pu être mesurée sont de l'ordre de la centaine de roentgens (Upton et Furth, 1953).

S'il est difficile de montrer pour l'action cancérigène des radiations ionisantes, qu'il n'existe pas de seuil dans le sens qui lui est attribué plus haut, la preuve du contraire n'a pas jusqu'ici été donnée. Cependant, Furth et Lorenz (1954) admettent que pour l'activité leucémogène, il pourrait en exister un.

La complexité des facteurs impliqués dans l'apparition d'une tumeur maligne ou d'une leucémie, obscurcit le problème de l'étiologie de la cancérisation.

S'il est pour cette raison impossible d'extrapoler aux très faibles doses les observations effectuées aux doses moyennes, quelques comparaisons autorisent toutefois à admettre que, *toutes conditions étant constantes*, il n'y aurait pas de seuil, ni de baisse de l'efficacité cancérigène des radiations ionisantes. En effet du point de vue formel et en première approximation, la cancérisation peut être assimilée à une mutation : il s'agit de l'acquisition d'une nouvelle propriété, héréditairement transmissible ayant, semble-t-il, le même degré de stabilité que les caractères génétiques portés par les cellules sexuelles ou les microorganismes. En la considérant comme telle et en faisant abstraction d'autres mécanismes possibles, il paraît légitime d'admettre, jusqu'à preuve du contraire, l'absence d'un seuil d'action.

V. — L'UTILISATION PRATIQUE DU TEST BIOLOGIQUE CONSTITUÉ PAR L'INDUCTION DES BACTÉRIES LYSOGÈNES

Entre l'énergie évaluée par la mesure physique d'une dose de rayons X ou γ , et celle dissipée dans un système biologique, règne une incertitude qui est essentiellement liée à l'existence du rayonnement diffusé. En effet, les dosimètres les plus courants ne mesurent que les radiations d'une énergie donnée, avec une tolérance plus ou moins grande pour le rayonnement secondaire.

Au contraire, un test biologique, en dépit de sa sensibilité très faible comparée à celle des instruments de physique, renseignerait mieux sur les doses que reçoivent les tissus d'un animal soumis à une irradiation.

Un dosage peut être effectué à l'aide du test de l'induction de $K12(\lambda)$, en exposant une suspension de ces bactéries à l'action des rayons dont on veut estimer la dose. On compare le résultat avec une irradiation témoin à l'aide de rayons X ou γ . Étant donné qu'en coordonnées logarithmiques, la relation dose-effet est représentée par une droite de pente égale à 1, il suffit d'un seul point pour la déterminer. La précision des mesures dépend de la sécurité avec laquelle ce point est défini. En pratiquant plusieurs irradiations semblables, on peut atteindre une précision de ± 10 p. 100 sur l'estimation de la dose inconnue.

I) INDUCTION DE BACTÉRIES A L'ÉTAT CONGELÉ

La technique qui vient d'être décrite, n'est pas utilisable telle quelle pour des irradiations prolongées pendant plusieurs jours. En milieu liquide même à 0 °C, l'inductibilité décroît notablement au bout de 24 h, et le test perd beaucoup de sa sensibilité. Par contre, si on congèle la suspension bactérienne, son aptitude à être induite se conserve pendant un temps qui excède plusieurs semaines.

La méthode utilisée est la suivante : une culture de $K12(\lambda)$ est pratiquée dans les conditions habituelles. Quand elle atteint la fin de la phase de croissance exponentielle, on la dilue au dixième dans du bouillon additionné de 20 p. 100 de glycérine, et maintenu à 0 °C. On répartit dans des ampoules que l'on scelle. On plonge ces ampoules dans de l'alcool à 0 °C et on abaisse progressivement la température en ajoutant de la glace carbo-

nique. La congélation débute à -15°C ; cependant, il y a intérêt à poursuivre jusqu'à -40°C environ, de manière à éviter la surfusion. Pour dégeler, on plonge les ampoules dans de l'eau à 0°C . Cette manière de procéder n'entraîne pas de mortalité décelable et conserve l'aptitude à l'induction. Toutefois, le fait pour les bactéries d'avoir été dans une solution concentrée de glycérine allonge de 5 mn la durée de la période latente et rend la lyse moins franche.

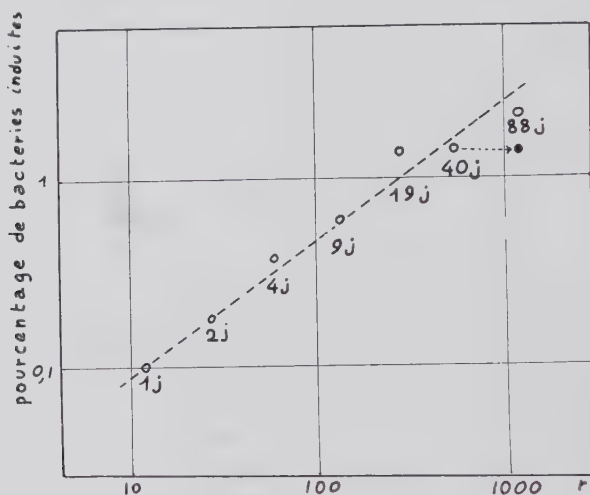


FIG. 17. — Courbe d'induction de bactéries de la souche d'E. coli K12(λ), exposées à des rayons γ du radium sous un débit de 12 r par jour. La suspension bactérienne est à l'état congelé à -25°C , dans du bouillon additionné de 20 p. 100 de glycérine. Le cercle noir correspond à un échantillon soustrait à l'action du rayonnement au 40^e jour, et « développé » le 88^e jour.

Dans la figure 17 sont représentés les résultats obtenus avec une suspension de bactéries ainsi traitées. Mises en présence d'une source de 1 mg de radium qui leur délivrerait 12 roentgens par 24 h et conservées à -25°C , ces bactéries se sont montrées capables d'intégrer les doses reçues pendant 88 jours. Si au 40^e jour on soustrait un échantillon à l'influence du radium, les bactéries induites conservent leur capacité de produire des phages, même si on ne « développe » la réaction que 48 jours plus tard. Il est important que pendant la durée de l'expérience les suspensions de bactéries ne dégèlent pas.

En raison de perturbations apportées à la lyse bactérienne par la glycérine, la sensibilité du test est diminuée et ne permet pas de détecter moins de 2 r.

2) ÉVALUATION DES DOSES REÇUES PAR LES GONADES AU COURS DE CERTAINS EXAMENS DE RADIODIAGNOSTIC

Au cours de certains examens portant sur la région lombopelvienne, les gonades sont irradiées. Elles reçoivent des doses de rayons X que l'on s'accorde à tenir pour négligeables.

Les premières recherches furent effectuées chez la femme, afin de déterminer la dose ovarienne administrée au cours des examens de radiodiagnostic. On utilisait des chambres d'ionisation placées derrière des « fantômes » ou intra-vaginales (Zimmer, 1935). Les doses évaluées dans ce dernier cas au niveau de l'ovaire sont de l'ordre de 0,43 à 0,75 r pour un examen du bassin. L'augmentation de la sensibilité des films radiologiques conduisit à réduire considérablement les temps d'exposition, et par conséquent la dose reçue par les gonades (Kolbow, 1940). Elles sont actuellement de l'ordre de 0,05 r pour la prise d'un seul cliché. Cependant, en raison de la durée toujours considérable de l'examen radioscopique, ces doses pour l'ensemble d'une exploration restent relativement élevées. Pour Martin et Williams (1946) ces doses seraient de 0,80 à 0,86 r pour une pelvimétrie. Chez une femme enceinte, et selon le type d'appareil utilisé, les ovaires peuvent recevoir de 0,4 à 3,5 r pour ce même examen. Pour Stanford et Vance (1955) la dose ovarienne serait voisine de 0,6 r.

Au cours d'une hystérosalpingographie, Preiskell et Pollock (1953) estiment que l'ovaire reçoit de 1,6 à 2 r.

Des mesures ont été effectuées dans le service du Dr Baclesse à la fondation Curie à l'aide du test de l'induction de $K_{I2}(\lambda)$.

Pour déterminer les doses reçues par l'ovaire au cours des examens de radiodiagnostic, la suspension bactérienne a été placée sous un fantôme cylindrique de 9 cm d'épaisseur sur 3 cm de diamètre, constitué par des plans cutanés et musculo-aponévrotiques prélevés sur un cadavre formolé. Ces plans étaient noyés dans de la gélose bactériologique afin d'éviter les enclaves d'air.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau de la page suivante.

Les doses administrées, en pratique radiologique, sont fonction de la nature de l'examen, de la conformation du sujet, et pour beaucoup, de l'appareillage utilisé.

En se reportant aux chiffres du tableau précédent, on peut estimer que les doses reçues sont de 0,05 à 0,3 r sur l'ovaire, pour la prise d'un seul cliché de la région pelvienne, selon l'exa-

men considéré. Chez l'homme, le testicule étant situé sous des plans tissulaires relativement peu épais, les doses reçues pour des examens du bassin seraient environ cinq fois supérieures à celles reçues par l'ovaire pour une exposition analogue.

TABLEAU VIII

*Doses administrées par un tube de radiodiagnostic
à une suspension de bactéries lysogènes K12(λ)*

VOLTAGE	DURÉE D'EXPOSITION	DOSE REÇUE par les bactéries	DOSE en r/s à 100 cm calculée à partir des données de la colonne 3
I. — Mesures sans fantôme			
60 kV. .	6 s	10 r	0,4 r
80 kV. .	6 s	13,8 r	0,6 r
100 kV. .	6 s	22 r	1,0 r
II. — Mesures avec fantôme			
60 kV. .	30 s	2,4 r	0,02 r
80 kV. .	20 s	4,0 r	0,06 r
100 kV. .	12 s	4,2 r	0,09 r

Le test de l'induction des bactéries lysogènes permet de rechercher si le rayonnement secondaire émis par des atomes lourds situés dans le champ de l'irradiation augmente, dans les tissus voisins, la quantité d'ionisations. Par exemple, au cours d'une hystérosalpingographie, le liquide opaque venant au contact même des cellules sexuelles risque-t-il d'accroître d'une façon appréciable l'irradiation de ces dernières ? Pour éclaircir ce point une goutte de suspension bactérienne a été déposée à la surface d'une solution de lipiodol à 40 p. 100 et irradiée sous des tensions de 60 kV. Aucune différence significative n'a été constatée avec les suspensions bactériennes irradiées sans lipiodol. Par conséquent on peut conclure que le rayonnement secondaire émis dans ces conditions vers l'ovaire, contribue pour une fraction inférieure à 10 p. 100 à la dose totale reçue par la glande.

Il est évident, en tenant compte de ce résultat, que le rayonnement secondaire émis sur l'ovaire à partir des os du bassin peut être tenu pour négligeable comparé au rayonnement direct.

Malgré la petitesse des doses reçues par les gonades au cours d'une exploration radiologique, il est des affections qui, de par

la longueur de leur évolution et la nécessité d'examens répétés conduisent à administrer aux gonades des doses relativement élevées. On peut ainsi estimer, que chez une femme atteinte de tuberculose de la hanche, les investigations radiologiques successives conduisent à donner des doses de l'ordre de 30 r et que chez un homme elles peuvent dépasser 150 r.

Ces irradiations à l'échelle individuelle peuvent paraître assez fortes. Mais c'est peu de chose en tant que dose moyenne à l'échelle de la population entière.

Par contre, l'action cancérogène n'est susceptible d'aucune régulation. C'est l'individu irradié et lui seul qui en est la victime. Or, le nombre des individus irradiés pour des examens de contrôle de l'état pulmonaire est considérable. Il atteint des dizaines de millions d'individus. Sur un effectif aussi considérable, il est logique de penser (en admettant que l'action cancérogène des radiations ionisantes est un phénomène sans seuil) que quelques cas de tumeurs malignes pourraient être la conséquence directe de ces examens. Cependant, en raison même des doses très faibles administrées, le fait doit être plutôt rare et n'entre pas, de toute évidence, en balance avec les bienfaits du dépistage précoce des affections pulmonaires.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE LA RADIOPROTECTION CHIMIQUE CHEZ $K_{I2}(\lambda)$

I. — INTRODUCTION

Pouvoir modifier la réponse d'un organisme ou d'un tissu à l'action des radiations ionisantes, présente un intérêt considérable de plusieurs points de vue. En premier lieu, sur le plan théorique, il y a là un moyen d'analyser le mécanisme de l'action biologique de ces radiations. En second lieu, sur le plan pratique, on peut espérer pouvoir agir à titre préventif ou curatif sur le développement de certaines radiolésions. Enfin, on conçoit l'intérêt qu'il y aurait à modifier, dans un rapport suffisant, les sensibilités relatives des tissus sains et des tissus pathologiques afin de pouvoir détruire ceux-ci plus électivement.

1) L'OXYGÈNE

Parmi les facteurs susceptibles de modifier la vulnérabilité du matériel biologique, l'oxygène apparaît comme le plus important. La variation de la radiorésistance des organismes, en liaison avec la tension d'oxygène, apparaît comme un des phénomènes de base de la radiobiologie.

Dès le début de ce siècle, on avait constaté en pratique radiothérapique, que le froid, la compression locale, l'injection sous-cutanée d'adrénaline diminuaient sensiblement les lésions de la peau. Le mécanisme de ce phénomène fut longtemps discuté. On invoquait notamment des influences métaboliques. En 1942,

Lacassagne résolut le problème en montrant que des souriceaux nouveau-nés, irradiés en état d'asphyxie prononcée, résistaient à des doses de 1 500 r, léthales pour tous les témoins.

Les premières observations d'un effet oxygène *in vitro* ou sur des organismes inférieurs datent de 1923 avec Holthusen sur les œufs d'*Ascaris*, Crabtree (1932), sur des sarcomes du rat, transmis par greffe, Anderson et Turkowitz (1941) sur les levures. En 1951, Hollaender, Stapleton et Martin, en montrèrent l'existence chez les bactéries. En ce qui concerne le matériel génétique, Thoday et Read (1947) ont vu que les ruptures chromosomiques des racines de pois irradiées en aérobiose sont plus fréquentes qu'en anaérobiose. Il en est de même chez la *Drosophile* (Baker et Sgourakis, 1950).

Malgré la généralité de l'effet oxygène, il existe quelques exceptions. En 1950, Anderson trouva chez deux souches d'*Escherichia coli* ayant besoin de streptomycine et d'histidine comme facteurs de croissance, que l'induction par les rayons X des mutations vers l'indépendance, n'est sensible à la tension d'oxygène que pour la déficience pour l'histidine.

En 1952, Russell, Kile et Russell, irradiant des souris mâles avec 800 r constatèrent que l'anoxie protège contre l'effet léthal et la stérilité induite. Par contre, la fréquence des léthaux dominants n'en est pas modifiée. En 1955, Ephrussi-Taylor et Latarjet ne trouvèrent pas d'effet oxygène chez le principe transformant du pneumocoque si l'irradiation est pratiquée dans un milieu tamponné contre les effets indirects, c'est-à-dire en bouillon concentré. Tel est également le cas des bactériophages (Hewitt et coll., 1950).

2) LES FACTEURS CHIMIQUES

Parallèlement à ces travaux, se développait l'étude de l'action de diverses substances ajoutées au milieu d'irradiation sur les systèmes les plus divers. L'impulsion fut donnée par Dale (1940). Cet auteur montra que la carboxypeptidase est plus aisément inactivée en solution diluée qu'en solution concentrée, et qu'il existait, en quelque sorte, un effet auto-protecteur. En 1942, Dale fit l'hypothèse que les rayons X pourraient agir par l'intermédiaire de substances formées à partir de l'eau. Les travaux qui firent suite à ceux de Dale, concernent les organismes les plus divers. Il s'en dégage une unité certaine en ce qui concerne le phénomène de la radioprotection.

On examinera séparément le cas des animaux et celui des microorganismes.

a) *Les micro-organismes.* — L'investigation sur la radioprotection chimique chez les microorganismes et surtout chez les bactéries, a été menée essentiellement par Holländer et ses collaborateurs. Il ressort de leurs travaux, que d'une manière générale, les substances actives chez l'animal le sont également chez les bactéries.

Holländer et Stapleton (1953) classent les substances radioprotectrices en deux catégories : celles dont l'activité est immédiate et ne nécessite pas de préincubation en leur présence, comme par exemple la cystéine, la β -mercaptoéthylamine, l'hypo-sulfite de soude, et celles qui ne sont pleinement actives que si on incube dans un milieu les contenant, les bactéries pendant une trentaine de minutes. Les concentrations nécessaires pour ces dernières sont relativement élevées quand on les compare à celles des autres ; elles sont de l'ordre de 0,1 M (à 3,4 M pour l'éthanol). A cette dernière catégorie appartiennent les métabolites, tels que le succinate, les alcools, les acides organiques. Les corps de la première catégorie, notamment la cystéine et l'hyposulfite de soude (Burnett, Stapleton, Morse et Holländer, 1951) agiraient par un effet anoxique. Telle est aussi l'opinion de Patt, Blackford et Straube (1952) en ce qui concerne l'action *in vitro* de la cystéine sur les thymocytes de lapin. Dans le cas de la β -mercaptoéthylamine, le mécanisme d'action relèverait de la formation de complexes avec les acides nucléiques (Holländer et Stapleton, 1955). D'une façon générale, l'activité protectrice de tous ces corps croît, en fonction de la concentration jusqu'à un palier. Les effets de deux substances d'une même catégorie ne s'ajoutent pas si leur concentration est suffisante.

Stapleton, Billen et Holländer (1952) pensent que dans le mécanisme d'action des substances actives après incubation, interviennent des réactions enzymatiques qui tendraient à réduire l'oxygénation des cellules. Cela est en accord avec le fait que le cyanure de potassium supprime leur activité protectrice.

Holländer, Stapleton et Martin (1951) ont signalé que la sensibilité de la souche E. coli B/r, utilisée dans leurs expériences est indépendante de la densité des suspensions bactériennes au-dessus de 10^7 bactéries par cm^3 . Cette sensibilité augmenterait pour des densités plus faibles. Goucher et ses collaborateurs (1955) ont montré que, si l'irradiation est effectuée dans des récipients largement aérés, l'effet de densité bactérienne disparaît. Ils ont trouvé en outre, que dans les mêmes conditions, la protection par le succinate et l'éthanol est inexis-

tante, ce qui confirme bien le rôle de l'oxygène dans le cas des suspensions bactériennes ayant un métabolisme actif.

Le facteur anoxie paraît donc être un élément prédominant de l'activité des substances radioprotectrices chez les bactéries.

D'autres types de protection ont été observés, notamment avec les virus. Ainsi, on peut empêcher l'action indirecte des rayons ionisants de se manifester sur les phages en présence de diverses substances organiques, telles que l'acide thioglycolique, le tryptophane (Latarjet et Ephrati, 1948), ou dans du bouillon (Luria et Exner, 1941 ; Watson, 1952). De même, un principe transformant du pneumocoque peut être protégé dans des proportions considérables par l'incorporation d'extrait de levure au milieu d'irradiation (Ephrussi-Taylor et Latarjet, *loc. cit.*). L'activité protectrice de l'extrait de levure concentré (9 p. 100) a été également constatée sur l'inactivation d'une colicine par les rayons X (Latarjet et Fredericq, 1955).

b) *La radioprotection chez les animaux.* — En 1949, Barron et ses collaborateurs constatèrent que des enzymes à fonction SH, telle la phosphoglycéraldéhyde déshydrogénase, ou l'héxokinase, tendaient à s'oxyder sous l'effet de l'irradiation en formant des disulfures. D'après ces auteurs, en engageant les molécules dans des complexes labiles avec des corps comme le glutathion, on en diminuait la radiosensibilité. Ces recherches furent bientôt étendues à l'animal. Patt (1949), à l'aide de la cystéine, protégeait le rat contre des doses léthales pour tous les témoins. Parmi les substances à fonction SH, Bacq et ses collaborateurs (1951), étudièrent plus particulièrement la β -mercaptoéthylamine. Celle-ci se révéla, malgré sa toxicité, être parmi les corps les plus actifs.

A la suite de ces travaux, les recherches sur l'activité protectrice de substances très diverses furent entreprises. Les alcools, les acides organiques, les glucides, les acides aminés furent trouvés doués d'activité protectrice, à des degrés divers. En général, leur efficacité est faible, et ils doivent être administrés à doses toxiques. Il en est ainsi de l'éthanol (Patterson et Matthews, 1951), du glycérol (Mole, 1951), du glucose et de l'acide formique (Bacq et Alexander, 1954, *loc. cit.*). Les dérivés de certains phénols ont été trouvés actifs chez la souris, à des doses relativement peu toxiques (Lacassagne, Duplan et Buu-Hoi, 1954).

Certaines substances, tel le cyanure de potassium protégeraient la souris (Hervé et Bacq, 1949), mais non le rat (Dowdy et coll., 1950). En revanche, elles pourraient accroître la vulnérabilité des cellules tumorales aux rayons X (Crabtree et Cramer,

1935). Il est généralement admis que le mécanisme d'action relève ici d'une anoxie par blocage du système des cytochromes. Cependant, dans le cas des cellules tumorales, c'est le phénomène inverse qui aurait lieu : il s'agirait d'un accroissement de la sensibilité par défaut d'utilisation d'oxygène.

Parmi les mécanismes invoqués, celui qui paraît établir le lien entre les divers travaux fait appel à un processus anoxique dont l'origine est diverse : production de méthémoglobine, comme c'est le cas de la paramino-propionophénone (Storer et Coon, 1950), ou de l'oxyde de carbone (Bonet-Maury et Patti, 1950).

Les substances radioprotectrices possèdent un certain nombre de caractères communs. Ce sont en général des corps réducteurs ou pouvant agir, chez l'animal, en perturbant directement ou non la respiration tissulaire.

Un deuxième point commun est la nécessité pour avoir un bon effet protecteur, d'utiliser des quantités de substance très élevées, voisines de la dose léthale. Il est évident, dès lors, que dans de pareilles conditions, l'état physiologique de l'animal est tel qu'on ne peut avoir de certitude sur le métabolisme des cellules, et sur le degré d'oxygénation. L'existence d'une vasodilatation consécutive à l'administration du radioprotecteur n'autorise pas à conclure à l'absence d'une hypoxie au niveau des tissus.

Un dernier trait retrouvé avec tous les radioprotecteurs, aussi bien chez les animaux que chez les microorganismes, est leur très faible efficacité. Dans les conditions optimales, le facteur de réduction de la dose, c'est-à-dire le rapport des deux doses qui produisent le même effet avec et sans protecteur, est voisine de 2. Or cette valeur est justement celle que l'on observe quand un effet oxygène est en cause.

II. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Les propriétés qui ont été analysées dans le système lysogène d'*Escherichia coli* K12, peuvent être utilisées pour aborder le problème de la radioprotection chez les microorganismes. Dans quelques cas, on a utilisé la souche de *E. coli* B/r, afin de pouvoir effectuer des comparaisons valables avec les expériences de radioprotection bactérienne, effectuées dans d'autres laboratoires.

1) MATÉRIEL

Ils sont les mêmes que ceux décrits plus haut. Il a été vérifié pour la souche d'E. coli B/r que la courbe de survie est la même que celle publiée par Hollænder et ses collaborateurs (1954).

2) TECHNIQUE

Les particularités suivantes méritent d'être mentionnées : Les irradiations sont effectuées avec le tube Holweck déjà décrit et durent entre 30 s et 1 mn. Le débit du rayonnement est de 1 000 r/s. Les suspensions bactériennes sont irradiées dans des cuves faiblement concaves creusées dans une plaque de plexi-glass. Leur volume est de 0,3 cm³.

Pour les irradiations dans le vide, on place dans les boîtes en verre décrites ci-dessus (fig. 1) une petite cuve de verre de 20 mm de diamètre dans laquelle on met 0,5 cm³ de suspension bactérienne.

Aussitôt après l'irradiation, les bactéries sont diluées à 1 p. 100 dans une solution tampon, et gardées dans la glace fondante jusqu'au moment de l'étalement en boîtes de Petri ; il a été vérifié que les résultats sont les mêmes si on pratique l'étalement immédiatement après l'irradiation, ou après un délai d'une heure.

Quand on étudie l'action protectrice de substances chimiques on ajoute celles-ci au milieu avant d'y placer la suspension bactérienne.

III. — INFLUENCE DE L'OXYGÈNE

1) COURBES DE SURVIE DE KI₂S, DE KI₂(λ)

La radiosensibilité de KI₂S et de KI₂(λ) est notablement diminuée quand les bactéries sont exposées aux rayons X, dans le vide. La dose qui tue 63 p. 100 des individus, comme on le voit d'après les courbes de survie de la figure 18, est de 18 000 r pour KI₂S et de 4 500 r pour KI₂(λ). Ceci correspond à un facteur de réduction de la dose voisine de 2. Si on opère de la même manière sur une culture de KI₂(λ) non inductible, la courbe de survie se superpose à celle de KI₂(λ).

2) COURBES D'INDUCTION (1)

L'ensemble de la courbe d'induction de KI₂(λ) n'est pas modifiée, que l'irradiation se fasse dans l'air ou qu'elle ait lieu

(1) Alper vient de trouver récemment un effet oxygène dans l'induction en anoxie très poussée (communication personnelle).

dans le vide, ainsi que le montre la figure 19. Ce fait implique, d'une part que le processus de l'induction par les rayons X est insensible à la tension d'oxygène, d'autre part qu'il en est de même pour l'inactivation de la « capacité » des bactéries induites à assurer la synthèse des virus.

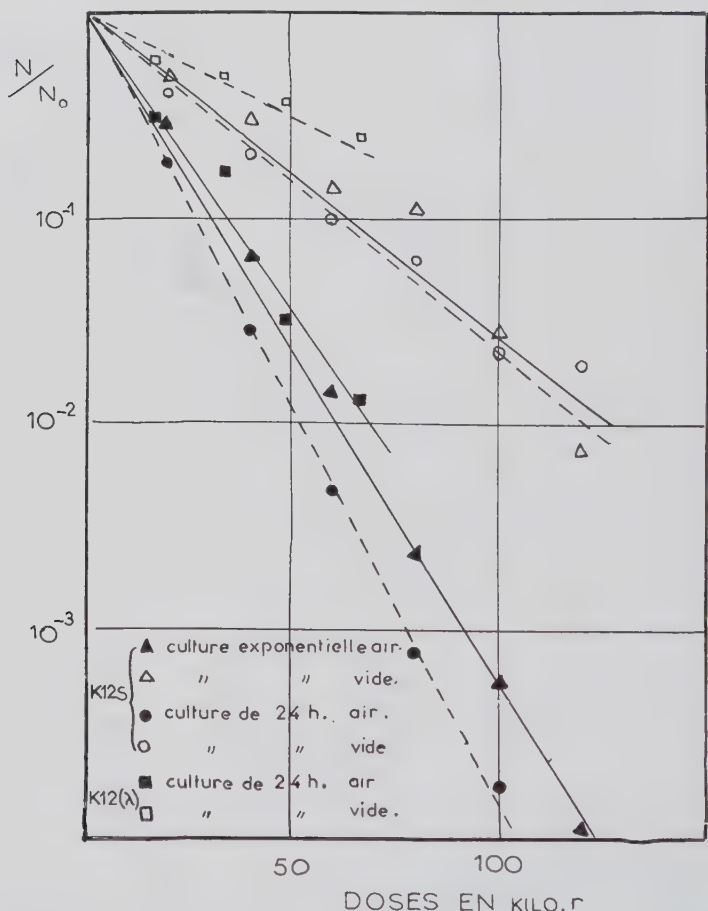


FIG. 18. — Courbes de survie de K12S dans le vide et dans l'air. Courbes de survie de K12(λ) non inductible dans le vide et dans l'air.

L'étude de la portion ascendante de la courbe d'induction, par la méthode indirecte décrite plus haut montre que la fréquence des bactéries induites est la même dans le vide que dans l'air. On notera qu'il en est de même pour la faible inductibilité résiduelle d'une culture carencée (fig. 20).

3) L'action létale des rayons X sur le bactériophage (λ) est la même dans l'air que dans le vide.

4) Comme pour les irradiations pratiquées dans l'air, le nombre de bactéries induites, dans le vide, à produire des phages

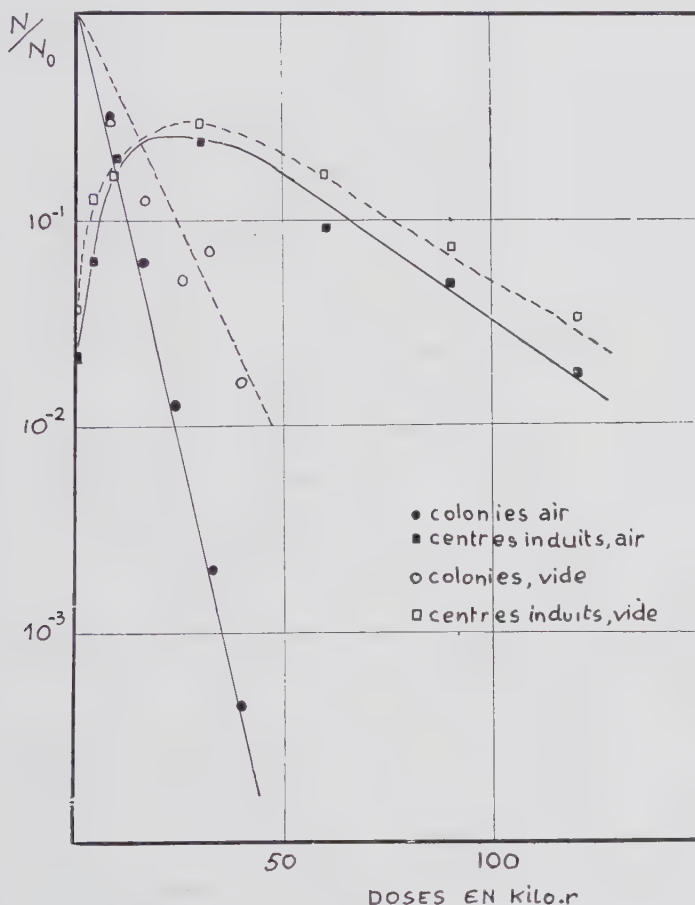


FIG. 19. — Courbes de survie et courbes d'induction de $K12(\lambda)$ inducible dans le vide et dans l'air.

est trop petit pour rendre compte de la différence de radiosensibilité manifestée par les souches $K12(\lambda)$ et $K12S$. Étant donné que cette différence disparaît quand la souche lysogène perd son aptitude à être induite, on est conduit ici aussi à admettre l'existence d'inductions abortives. La dose qui correspondrait à une proportion de 63 p. 100 de ces inductions est, dans le vide,

de 10 000 à 15 000 r. Dans l'air on avait trouvé une valeur de 4 500 r. Contrairement aux inductions productives, les induc-

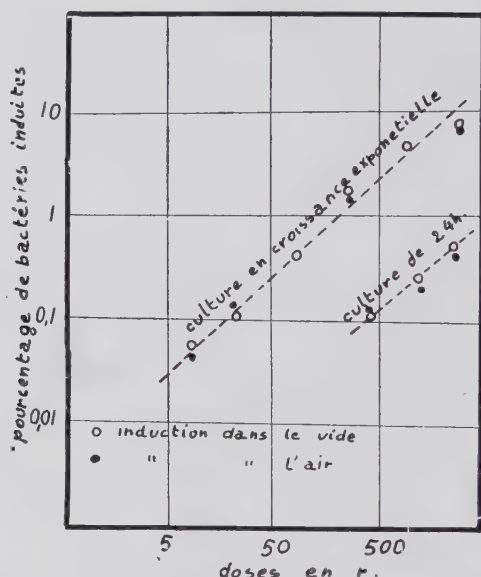


FIG. 20. — Induction dans le vide et dans l'air de K12(λ) en fin de croissance exponentielle et en phase stationnaire depuis 18 h (méthode phage libre).

tions abortives manifesteraient donc un effet oxygène avec le facteur de réduction de dose habituel.

IV. — L'INFLUENCE DES FACTEURS CHIMIQUES

A. — LA GLYCÉRINE

1) ACTIVITÉ PROTECTRICE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DU MILIEU

Quand on ajoute de la glycérine au milieu de suspension, on constate un effet protecteur dont la netteté dépend de la concentration et de la dose utilisée. Dans la figure 21 sont tracées les courbes de variation du nombre de bactéries survivantes en fonction de la concentration de glycérine pour une dose de 15 000 r. L'effet protecteur croît en fonction de la quantité de glycérine jusqu'à un palier qui se situe vers 1 M. L'activité protectrice est la même en milieu synthétique qu'en bouillon.

Ce dernier, même à la concentration pondérale de 10 p. 100 est inactif par lui-même. Il en est de même de la catalase qui n'exerce aucune activité, à une concentration où elle restaure des complexes bactéries-virus inactivés par des peroxydes organiques formés par une illumination intense (Latarjet et Caldas, 1952). Ce fait indiquerait que la protection par la glycérine ne s'exerce pas dans le cas étudié ici, selon un processus qui implique la destruction d' H_2O_2 , ou selon un mécanisme d'oxydation couplée entre elle et les produits radioformés.

Dans le tableau X, sont inscrits les résultats obtenus avec des suspensions bactériennes dans des milieux glycélinés à diverses concentrations. On remarquera que le nombre de bactéries induites est le même dans tous les cas.

TABLEAU X

*Action protectrice de la glycérine sur E. Coli K12(λ)
irradié avec 15 000 r*

<i>Exp. 1</i>									
Concentration molaire . .	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	1,0	2,5
<i>Témoin non irradié</i>									
Colonies . . .	254	124	320	276	288	254	289	245	309
Plages	2,4	2,8	3	2,7	2,3				
<i>Irradié</i>									
Colonies . . .	3,8	9,6	6,7		16	22,6	33,9	35,4	33,3
Plages	17,8	29,6	28,1	32,1	25,9	27,9	37,0		34,0
<i>Exp. 2</i>									
Concentration molaire . .	0	0,2	0,5		1,0	2,0	4,0		
<i>Témoin non irradié</i>									
Colonies . . .	372	277	321		311	331	276		
Plages	6,8	7,1	7,8		8,1	3,5	5,2		
<i>Irradié</i>									
Colonies . . .	13,3	14,8	29,6		64,8	74,5	78,8		
Plages	58,8	51,7	65,2		65,6	48,1	18,7		

Les expériences du tableau précédent ont été conduites comme suit :

Une culture de *E. coli* K12(λ) ayant poussé jusqu'à une densité de $3 \cdot 10^9$ bactéries/cm³ est diluée à 10^2 dans du bouillon

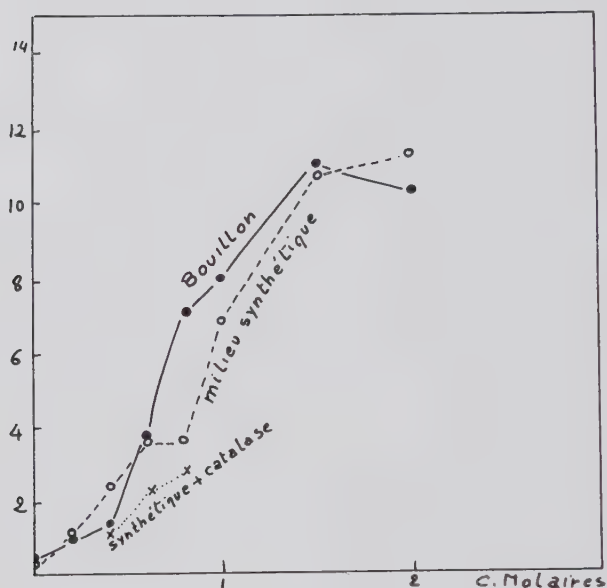


FIG. 21. — Action protectrice de la glycérine à diverses concentrations en bouillon et en milieu synthétique. Dose de rayons X : 15 000 r. Bactéries E. coli K12(λ).

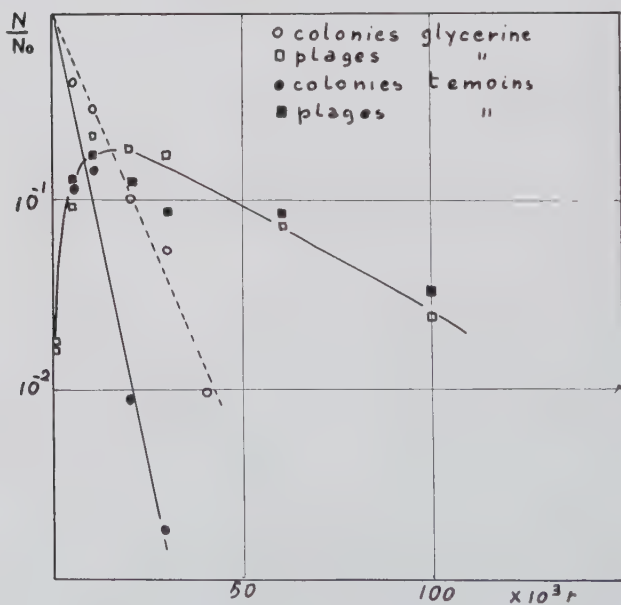


FIG. 22. — Courbes de survie et d'induction de K12(λ) irradié en présence d'une concentration de 2 M de glycérine et courbe témoin.

additionné de glycérine à diverses concentrations. On administre une dose de 15 000 r en 30 s et on étale sur des boîtes de Petri pour déterminer la fraction de survivants ainsi que le nombre de bactéries induites.

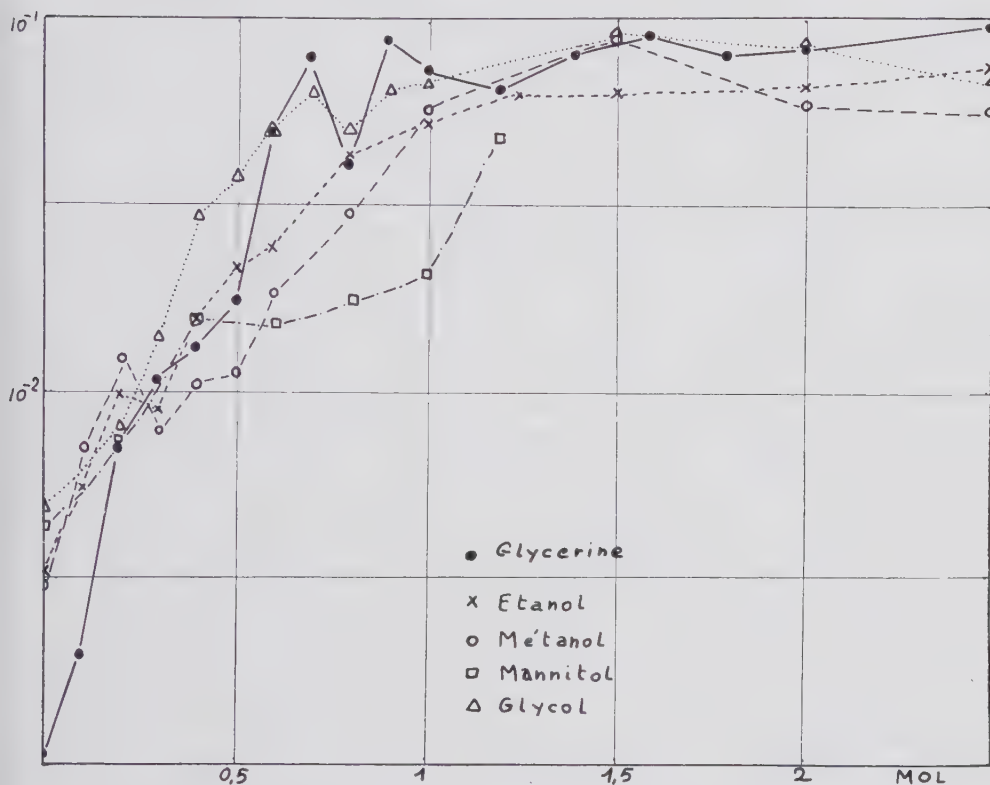


FIG. 23. — Survie des bactéries de la souche *E. coli* K12(λ) à une dose de 45 000 r donnée en présence de diverses concentrations de certains alcools.

2) ACTION SUR LA SURVIE ET L'INDUCTION DE K12(λ)

On a vu plus haut que si l'on irradie une suspension de bactéries de la souche K12(λ) avec des doses croissantes de rayons X, le nombre de survivantes décroît exponentiellement. Celui des bactéries induites à produire des bactériophages après avoir augmenté, atteint une valeur maximale, puis décroît. Si l'on pratique l'irradiation dans un milieu contenant une concentration de glycérine de 2 M, la courbe de survie garde son caractère exponentiel, mais change de pente. La radiosensibilité se

trouve abaissée d'une quantité équivalente à une réduction de la dose, selon un facteur 2 à 3. Par contre, la courbe d'induction n'est pas modifiée (fig. 22). Ces résultats sont superposables à ceux obtenus avec des bactéries irradiées dans le vide. Tout se passe comme si la protection conférée par l'anoxie et celle liée à la glycérine étaient qualitativement et quantitativement les mêmes.

Dans la figure 23, ont été représentées les courbes de survie des bactéries de la souche K12(λ) irradiées dans de l'eau physiologique en présence d'une concentration de 0,5 M de glycérine (c'est-à-dire à une concentration qui est loin du palier représenté, fig. 22 et 24). On voit que le caractère exponentiel des courbes se trouve conservé jusqu'à un taux de survivants de l'ordre de $1/10^4$.

3) PROTECTION DE K12S ET DE K12(λ) NON INDUCTIBLES

On a irradié en présence de glycérine, la souche sensible K12S et la souche lysogène K12(λ) ayant perdu son inductibilité par carence.

TABLEAU XI

*Protection par la glycérine de K12S
Concentration 2 M, dose 60 000 r*

	S	BT	(S) + gly.	S + gly. + catalase	BT + gly.	S + catalase
<i>Témoin :</i>	—	—	—	—	—	—
Gélose bouillon . . .	420	281	203	247	133	361
Gélose synthétique. .	291	294	218	356	182	378
<i>Irradié :</i>						
Gélose BT	0,19	0,10	2,96	2,71	4,88	0,49
Gélose S	0,23	0,8	2,61	2,53	4,20	0,21

Une suspension de E. coli K12 S ayant poussé en milieu synthétique jusqu'à une densité de $2 \cdot 10^{10}$ bactéries/cm³ est diluée au 1/10 en bouillon tryptone (BT) et en milieu synthétique (S) additionné ou non de 20 p. 100 de glycérine (gly). On irradie avec 60 000 r. On étale immédiatement sur gélose au bouillon et gélose au milieu synthétique.

Dans le tableau précédent, on voit que la sensibilité de K12S est la même en milieu synthétique qu'en bouillon. Dans les deux cas, la glycérine exerce une activité protectrice comparable. La catalase se révèle être ici, comme ci-dessus, sans action.

TABLEAU XII

Protection de K12(λ) carence, par la glycérine, dose 60 000 r

	TÉMOIN	GLYCÉRINE A 2 M
<i>Non irradié :</i>	—	—
Colonies	392	299
Plages	0,9	1,4
<i>Irradié :</i>		
Colonies	0,9	11,9
Plages	4,1	4,4

On voit que la souche de K12(λ) carencée, qui a perdu de ce fait la majeure partie de son inductibilité, est susceptible d'être protégée par la glycérine avec une efficacité égale à celle de K12S, et aussi à celle de K12(λ) inductible.

4) ACTIONS COMBINÉES DE LA GLYCÉRINE ET DE L'ANOXIE

Puisque l'anoxie et la glycérine ont des effets superposables, on peut supposer que les processus biologiques mis en cause dans les deux cas sont les mêmes. Si telle est la situation, on doit s'attendre à ce qu'ensemble leur maximum d'efficacité ne soit pas supérieure à chacun des deux facteurs pris isolément. C'est ce qui apparaît dans le tableau suivant où l'on voit que l'anoxie n'ajoute pas son action à celle de la glycérine. L'induction reste immuable dans diverses conditions réalisées.

TABLEAU XIII

Action combinée de la glycérine et de l'anoxie

<i>Témoin :</i>					
BT . . .	{	Colonies		206	
		Plages		10,7	
Glycérine	{	Colonies		305	
		Plages		9,7	
<i>Irradié :</i>		AIR	VIDE	GLYCÉRINE 2M	GLYCÉRINE + VIDE
		—	—	—	—
Colonies .		7,32	31,4	70,4	79,4
Plages . .		36,8	45,3	57,4	41,7

Une suspension de bactéries de la souche E. coli K12 (λ) est cultivée en bouillon tryptone jusqu'à une densité de $2 \cdot 10^9$ bactéries/cm³. On la dilue au 1/20 en bouillon additionné ou non de glycérine, et maintenue à C°. On irradie avec une dose de 15 000 r dans l'air, dans le vide, et dans le vide en présence de glycérine.

Dans le tableau suivant on a effectué la même expérience que précédemment, mais en utilisant une dose de 45 000 r afin de sensibiliser la réponse des bactéries. La concentration de glycérine utilisée était de 1,5 M.

TABLEAU XIV

Action combinée de la glycérine et de l'anoxie sur la survie de K12(λ)

	AIR	VIDE	GLYCÉRINE	
			air	vide
Témoin .	1 171	—	1 076	—
45 000 r .	0,384	107,7	40,4	236,3

Dans le cas d'un effet d'additivité, on aurait dû observer plus de 900 colonies dans l'échantillon irradié dans le vide en présence de glycérine.

L'activité de la glycérine n'est pas modifiée par un barbotage d'oxygène avant l'irradiation.

5) INFLUENCE DE LA DENSITÉ BACTÉRIENNE

Dans les expériences décrites plus haut la densité des suspensions bactériennes soumises à l'irradiation est de l'ordre de 10^8 bactéries par cm^3 . Comme on le voit dans le tableau suivant, la « protectibilité » n'est pas influencée par la densité bactérienne jusqu'à 10^6 bactéries par cm^3 .

TABLEAU XV

Influence de la concentration bactérienne sur l'activité protectrice de la glycérine

Densité bactérienne . . .	10^8	10^8	10^7	10^6
<i>Non irradié</i>				
Colonies	435	387	272	378
Plages	8,7	5,4	1,8	2,9
<i>Irradié</i>				
Colonies	18,4	81,2	76,4	86,0
Plages	59	34,6	32,1	28,7
	Témoin		Glycérine à 2 M	

Survie de K12(λ) et induction après une irradiation de 15 000 r en présence de glycérine. Influence de la densité bactérienne.

6) INFLUENCE DU TEMPS DE CONTACT

Dans les expériences précédentes, l'irradiation est effectuée 15 à 20 mn après la mise des bactéries dans le milieu glyciné. Deux types d'expériences ont été faits afin de déterminer la vitesse avec laquelle varie l'activité protectrice en fonction du temps de contact. L'un consiste à diluer au centième les bactéries, dans la solution de glycérine 2 M, et à les irradier avec 15 000 r, après divers temps de contact. Dans l'autre, on prélève des échantillons dans cette même suspension, à divers intervalles de temps, et on les irradie après les avoir dilués au centième dans du bouillon dépourvu de glycérine. Dans le tableau suivant sont reproduits les résultats de ces expériences effectuées sur la même culture bactérienne.

TABLEAU XVI

A) Influence du temps de contact avant l'irradiation

	0 mn	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	60 mn
<i>Non irradié :</i>	—	—	—	—	—	—
Colonies. . . .	97	96	79	93	123	99
Plages. . . .	2,1	2,3	2,1	4,5	1,2	2,6
<i>Irradié :</i>						
Colonies. . . .	3,64	14,7	11,5	12,3	11,6	13,8
Plages. . . .	17,6	7,6	12,2	11,9	13,8	14,9

B) Influence du temps de contact

avec une solution à 0,02 M de glycérine après un contact de 60 mn
avec une solution de 2 M

	0 mn (*)	5 mn	10 mn	15 mn	30 mn	60 mn
<i>Non irradié :</i>	—	—	—	—	—	—
Colonies. . . .	107	130	158	160	99	144
Plages. . . .	5,3	6,4	3,1	3,0	3,8	2,3
<i>Irradié :</i>						
Colonies. . . .	0,76	0,66	0,50	0,89	0,52	0,71
Plages. . . .	12,6	17,6		17,9	16,5	13,3

(*) Le temps de 0 mn est en fait de 3 à 4 s, auxquelles il faut ajouter les 30 s que dure l'irradiation.

Ces résultats montrent qu'il n'a pas été possible de mettre en évidence une variation de l'interaction bactéries-glycérine en fonction du temps de contact. Toutefois, les expériences de dilution révèlent qu'il pourrait y avoir une sensibilisation

des bactéries qui ont préalablement séjourné dans le bouillon à la glycérine 2 M. Il est à noter que la glycérine utilisée après l'irradiation n'exerce aucune activité restauratrice.

7) ACTION DU pH ET DE LA CHALEUR

La radiosensibilité de la survie de K12(λ), pas plus que celle de l'induction ne sont sensibles à des modifications du pH du milieu d'irradiation, entre 4 et 9. L'action protectrice de la glycérine est intégralement conservée dans ces conditions. Il en est de même si l'irradiation est effectuée à différentes températures en présence d'une concentration 0,5 M de glycérine (tableau XVIII).

TABLEAU XVII

*Influence du pH sur la radioprotection de K12(λ)
par la glycérine à 2 M*

pH	7,4	7,4	5	4
	ss. glycérine			
Colonies.	852	675	715	678
	<i>Non irradié</i>			
Plages.	12,7	5,6	6,2	
Colonies.	2,5	38,1	53,7	40,5
	<i>Irradié</i>			
Plages.	645	504	851	510

Des bactéries de la souche K12(λ) sont cultivées en bouillon jusqu'à une densité de $2 \cdot 10^9$ bactéries/cm³; on les dilue au 1/100 dans des solutions tampon à divers pH et on les irradie avec 15 000 r.

TABLEAU XVIII

*Influence de la température sur l'activité protectrice
de la glycérine*

Température .	0 °C	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	sans glycérine 0 °C
Témoin. . . .	424	317	303	272	360	402
Irradié. . . .	18,2	16,7	14,2	15,6	16,2	0,312

8) Dans le but de rechercher une interaction éventuelle de la glycérine et des produits radioformés en aérobiose, un dosage de l'eau oxygénée a été pratiqué par M. B. Ecker, à l'aide de la méthode au titane. On a comparé l'action d'une même dose

de 200 000 r sur de l'eau pure et sur de l'eau additionnée de glycérine à la concentration de 1 M. D'une façon constante, on trouve une augmentation de 20 p. 100 environ, d' H_2O_2 dans l'échantillon irradié en présence de glycérine, par rapport au témoin. Par contre, si l'expérience est pratiquée en anaérobiose ou avec de la glycérine anhydre, on ne décèle pas de quantité mesurable d'eau oxygénée. Loiseleur et Latarjet (1942), ont constaté ce phénomène avec des solutions aqueuses de glucose et d'alcools.

* *

Pour éclaircir le mécanisme de la protection par la glycérine et préciser éventuellement à quelle propriété est lié ce pouvoir on a recherché parmi d'autres corps l'existence du pouvoir protecteur.

B. — MÉTHANOL, GLYCOL, MANNITOL ET ÉTHANOL

Dans la figure 23, ont été tracées les courbes de variation de l'activité protectrice en fonction de la concentration de ces substances. On voit que leur activité est superposable à celle de la glycérine. Sauf pour le mannitol dont la saturation est atteinte vers la concentration 1 M, on trouve un palier qui commence vers cette dernière valeur.

Le méthanol, l'éthanol et la glycérine utilisés simultanément à la concentration individuelle de 1 M, n'additionnent pas leurs activités protectrices.

La similitude des courbes d'action de la figure 24 suggère qu'à molarité égale, l'activité protectrice est la même. Cela veut dire que c'est la molécule entière qui se trouve impliquée dans le processus de protection et non les fonctions alcools, considérées par elles-mêmes. En d'autres termes, si le mécanisme de la protection relevait d'une fixation de substances sur les fonctions alcools (qu'elles soient secondaires ou primaires), à concentrations moléculaires égales, le mannitol devrait être six fois plus actif que le méthanol ou l'éthanol, et trois fois plus que le glycol. Si l'on admettait que seule la fonction alcool primaire était active, on comprendrait que le mannitol, la glycérine et le glycol aient la même activité, mais ces corps seraient encore deux fois plus actifs que le méthanol et l'éthanol. On peut donc conclure que, dans chaque cas, une seule fonction alcool est utilisable à la fois, ou que l'activité protectrice n'est pas directement liée à la fonction alcool prise

isolément. Le schéma envisagé plus loin du blocage de certains sites bactériens sensibles aux radicaux formés par les rayons X en présence d'oxygène peut rendre compte de ces résultats.

C. — ACIDES FORMIQUE ET ACÉTIQUE

Les acides organiques, à certains égards se rapprochent des alcools. La différence la plus importante dans les deux types de corps est la facilité avec laquelle l'H peut être remplacé par un métal.

En raison de leur toxicité on ne peut les utiliser à concentration élevée. Cependant, on trouve une nette activité protectrice avec l'acide acétique à la concentration de 0,1 M. La région de concentrations relativement étroite que l'on peut explorer ne permet pas de faire une étude suffisamment précise, et d'en tirer un élément de comparaison avec les alcools mentionnés ci-dessus.

Si l'on utilise de l'acétate de sodium, aucune activité protectrice ne peut être mise en évidence jusqu'aux concentrations de 1 M au moins.

D. — L'ALDÉHYDE ÉTHYLIQUE, LE GLUCOSE, LE SACCHAROSE

Ces corps exercent une nette activité protectrice. L'aldéhyde éthylique étant toxique, ne permet pas l'emploi de concentrations élevées.

E. — α ET β ALANINE

Stapleton, Billen et Hollænder (*loc. cit.*) ont trouvé que l' α alanine, à faible concentration, est douée de pouvoir protecteur si on incube les bactéries en sa présence, tandis que la β alanine est inactive. Cette différence a été attribuée au fait que l' α alanine est métabolisable par les bactéries tandis que son isomère ne l'est pas, et que la protection résulte d'une anoxie. Ces deux substances ont été essayées dans nos conditions expérimentales, c'est-à-dire en utilisant des concentrations considérables (jusqu'à 1 M). Une activité protectrice très nette a été trouvée. Elle a la même intensité pour les deux corps.

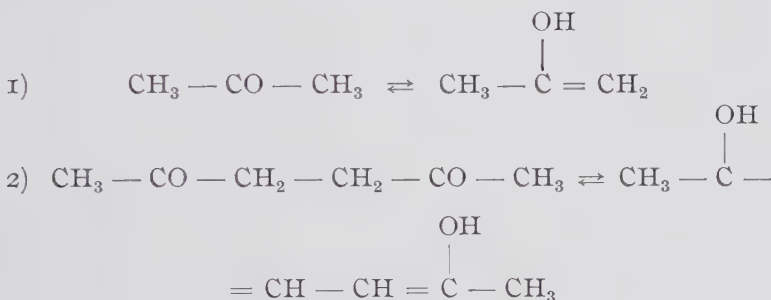
Il est fort peu probable qu'un mécanisme, faisant appel à un processus métabolique, soit en cause dans une telle protection, en raison de l'énormité de la concentration nécessaire et du fait que la β alanine (qui n'est pas utilisée comme source de

carbone par *E. coli*) est aussi active que son isomère. En accord avec une telle conclusion, on trouve que le méthylgalactoside, inducteur de la synthèse de la β galactozidase, mais non utilisé comme source de carbone, est douée d'activité radioprotectrice (Monod et Cohn, 1952). Il en est de même d'un polyoxyéthylène de poids moléculaire égal à 200.

F. — ACÉTONE, ACÉTONYL ACÉTONE

Des résultats mentionnés ci-dessus, il apparaît que les corps trouvés doués d'une activité radioprotectrice sont, soit des alcools, soit des acides organiques (mais non les sels de ces derniers).

La question se posait de savoir si le groupement OH était responsable de cette activité, quelle que soit la fonction à laquelle il participe. Dans le but d'y répondre, ont été étudiés l'acétone et l'acétonyl acétone qui en solution s'énolisent selon les réactions :



Les résultats inscrits dans le tableau suivant montrent que ces corps ne sont doués d'aucune activité protectrice, dans les conditions expérimentales habituelles.

TABLEAU XIX

Acétone

Concentration	0 M	1 M	0,3 M	0,10 M	0,03 M
		<i>Non irradié</i>			
Colonies	565	591	575	604	596
Plages	9,4	7,2	9,7	13,4	15,2
		<i>Irradié avec 15 000 r</i>			
Colonies	16,9	19,0	13,4	16,4	20,9
Plages	134,5	139,0	88,0	144,0	141,0

TABLEAU XX
Acétonyl acétone

Concentration.	0 M	0,03 M	0,1 M	0,3 M	1 M	3 M
<i>Non irradié</i>						
Colonies	691	594	640	606	589	204
Plages	8,9	—	—	11,1	—	7,5
<i>Irradié avec 15 000 r</i>						
Colonies	31,3	15,9	30,6	35,1	38,9	5,6
Plages	104,5	—	—	745	410	5,4

Étant donné que le taux d'énolisation de l'acétylacétone est influencé par le *pH*, un essai a été tenté avec une solution 1 M de ce corps, aux *pH* 5, 7 et 9. Le résultat est négatif, comme le montre le tableau suivant :

TABLEAU XXI

<i>pH</i>	5	7	9
<i>Non irradié</i>			
Colonies.	527	537	490
Plages.	—	8,8	5,2
<i>Irradié avec 15 000 r</i>			
Colonies.	41,5	37,1	15,7
Plages.	128	180	77

G. — CYANURE DE POTASSIUM

Ce corps protège la souris contre l'action de doses subléthales de rayons X (Herve et Bacq, 1949). Des essais tentés sur la souche d'E. coli K12(λ) ont été négatifs, même à des concentrations élevées (tableau XXII).

TABLEAU XXII

Concentration	0	0,03 M	0,1 M	0,3 M
<i>Non irradié</i>				
Colonies. . .	1 240	740	710	457
Plages. . . .	15,2	6,8	1,2	15,3
<i>Irradié avec 15 000 r</i>				
Colonies. . .	19,6	8,4	5,0	2,1
Plages. . . .	110,4	38,0	14,9	11,3

H. — CHÉLATEURS

Ces corps, le versène en particulier, ont été trouvés doués d'activité radioprotectrice chez la souris (Bacq, Herve et Fischer, 1953). Leur pouvoir est supprimé si, en même temps qu'eux, on donne du cuivre à l'animal. Le versène est dépourvu d'activité sur les bactéries *E. coli* K12(λ), aussi bien en bouillon qu'en milieu synthétique, jusqu'à des concentrations énormes, de l'ordre de 10 p. 100. Celles-ci dépassent de beaucoup les concentrations nécessaires à complexer les métaux lourds se trouvant dans le milieu.

1) CYSTÉINE ET CYSTÉAMINE (β -MERCAPTOÉTHYLAMINE)

Les corps à fonction —SH ont suscité un nombre important de travaux, surtout consacrés au problème de la radioprotection chez l'animal, à la suite du travail de Patt et de ses collaborateurs (1949). Bacq et Herve (1951) ont montré que la cystéamine possède une activité radioprotectrice remarquable chez la souris.

Les bactéries sont également très bien protégées par ces deux corps. Holländer et ses collaborateurs (1954) ont mentionné un facteur de réduction de la dose de l'ordre de 12 pour la cystéamine. Ces auteurs pensent que l'effet de ce corps est grandement accru si l'on ajoute au milieu, des extraits de levure ou de rate ; il y aurait, selon eux, un double processus de protection et de restauration couplées. Pour Holländer et coll. (1955), la cystéamine agirait sur les bactéries en se combinant réversiblement aux acides nucléiques.

Le problème de la radioprotection par la cystéine et la cystéamine a été repris dans nos conditions expérimentales avec les souches *E. coli* K12(λ) et *E. coli* B/r. Les résultats suivants ont été obtenus :

a) Pour la cystéine, la protection n'apparaît pas si on irradie les bactéries immédiatement après avoir ajouté cet acide aminé au milieu. Elle se manifeste si on attend 90 à 120 mn à la glacière. Elle est totalement et instantanément supprimée par un barbotage d'oxygène de quelques dizaines de secondes avant l'irradiation (voir tableaux XXIV et XXV).

b) Avec la cystéamine, la protection s'établit très rapidement à son taux maximum. Elle augmente peu si on laisse séjourner les bactéries en sa présence, et comme pour la cystéine, elle

disparaît presque entièrement si on effectue avant l'irradiation un barbotage d'oxygène (tableau XXIII).

TABLEAU XXIII

*Action de la β -mercaptoéthylamine
sur la survie des bactéries de la souche E. coli B/r aux rayons X*

	0 mn				60 mn			
	O_2^-		O_2^+		O_2^-		O_2^+	
	<u>T</u>	<u>Rx</u>	<u>T</u>	<u>Rx</u>	<u>T</u>	<u>Rx</u>	<u>T</u>	<u>Rx</u>
Témoin. . .	627	0,396	538	0,946	563	0,447	549	1,870
β mercapt. .	526	34,2	502	4,4	510	46,2	457	1,3
	T = témoin				Rx = irradié			

La technique expérimentale adoptée dans l'expérience correspondant au tableau ci-dessus est la suivante :

Des bactéries de la souche E. coli B/r, en fin de la phase de croissance exponentielle sont diluées au 1/10 dans du bouillon. On ajoute de la β -mercaptoéthylamine à la concentration $7 \cdot 10^{-4}$ M. On irradie avec une dose de 45 000 r à raison de 1 000 r/s. Les échantillons avec ou sans protecteur, sont irradiés après un barbotage préalable d'oxygène (O_{2+}) ou sans barbotage (O_{2-}).

On a comparé l'action du protecteur, immédiatement après son adjonction 0 mn et après un séjour de 60 mn à la glacière ; les suspensions bactériennes sont, dans ce cas, dans des tubes à hémolyse sous un volume de 5 cm³.

Il semble par conséquent qu'on peut déduire de ces résultats que la protection des bactéries E. coli K12(λ) et B/r par ces deux corps est la conséquence d'une anoxie du milieu, liée à leur pouvoir réducteur élevé. Cette conclusion est en accord avec une hypothèse analogue exprimée par Gray (1955) et vérifiée par des mesures physiques de la tension d'oxygène.

Aucune des substances utilisées dans cette étude n'est active si on l'utilise après l'irradiation, aucune ne se révèle protectrice pour l'induction dans des conditions où elles sont efficaces sur la survie des bactéries ()*.

(*) L'étude de l'action de ces corps sur la radiosensibilité des bactériophages n'est pas envisagée ici.

V. — DISCUSSION

L'importance de l'effet oxygène en radiobiologie est tel, que dans tout phénomène de protection, on doit avant toute autre hypothèse, le soupçonner d'intervenir. Dans tous les cas étudiés ici, sauf pour la cystéamine, l'éventualité d'une anoxie peut être écartée. En effet, les irradiations sont toujours de courte durée ; elles dépassent rarement une minute. Les suspensions bactériennes ont une épaisseur faible, et le rapport de la surface au volume est grand. En outre, si on fait barboter de l'oxygène dans le milieu juste avant d'irradier, on ne modifie pas la sensibilité des bactéries.

Une preuve plus directe est fournie par le dosage d'eau oxygénée formée par l'irradiation dans de l'eau additionnée ou non de glycérine. On s'accorde généralement à penser que l'accumulation d' H_2O_2 , sous l'influence des rayons X ou γ nécessite la présence d'oxygène. Ainsi, en pratiquant l'irradiation dans le vide (Lefort, 1950) ou dans une atmosphère d'azote (Ébert, 1954), il ne se forme qu'une très faible quantité d' H_2O_2 . En raison des réactions impliquées dans l'accumulation de ce corps, les dosages de la teneur en H_2O_2 n'ont qu'une valeur simplement indicative.

L'augmentation de la quantité d'eau oxygénée trouvée en présence de glycérine est un indice de la complexité de ces réactions.

Un certain nombre de faits ressortent de l'étude expérimentale qui vient d'être décrite.

1) La glycérine et l'anoxie n'additionnent pas leurs effets, de sorte que dans leur mécanisme d'action on peut supposer qu'il existe un point de convergence.

2) La même remarque s'applique à l'éthanol, à la glycérine et au méthanol, si on les utilise chacun à une concentration voisine de la molarité.

3) Les courbes d'action des divers protecteurs en fonction de leur concentration, montrent que l'activité croît, jusqu'à une valeur, qui correspond à une réduction de la dose selon un facteur 2 ou 3. Cette valeur est atteinte au voisinage de la molarité pour tous ces corps. Étant donné que ceux de la figure 24 ont un nombre variable de fonctions alcools, on peut admettre que l'activité protectrice n'est pas liée à la fonction alcool d'une façon simple, mais que ce qui compte, c'est la molécule tout entière.

4) L'activité protectrice de la glycérine s'établit sans délais mesurables, à partir du moment où on met ce corps en présence des bactéries. Elle cesse de même, dès qu'on la dilue. Cela donnerait à penser que la glycérine pourrait agir sur les produits formés dans le milieu extérieur aux bactéries. Cependant, le fait que son activité reste la même en bouillon qu'en lieu synthétique, qu'elle n'est pas modifiée par la catalase, plaiderait contre cette hypothèse. Dans ces divers milieux, en effet, il est vraisemblable que la nature des corps susceptibles de prendre naissance par l'irradiation ne soit pas la même. La rapidité d'action n'est pas un argument contraire à l'idée d'une action aux niveaux des bactéries elles-mêmes. La glycérine est en effet une petite molécule, dont la diffusion est rapide. Même si l'on suppose que le lieu d'action se trouve à l'intérieur des cellules microbiennes, leur faible dimension, la grandeur relative de leur surface, sont compatibles avec les faits observés.

5) On sait, qu'aux concentrations utilisées ici, la glycérine et les divers alcools sont déshydratants. Peut-on attribuer cette propriété à leur activité protectrice? Il ne semble pas, car l'acétone, dont l'activité protectrice est nulle, possède un pouvoir déshydratant comparable à celui des alcools cités plus haut.

6) Holländer et Stapleton (1953, *loc. cit.*) ont admis que les substances métabolisables, et en particulier les alcools et les acides aminés protègent contre l'irradiation, en raison de la baisse de la tension d'oxygène qu'entraîne leur utilisation. Cette explication ne saurait être adoptée ici, puisque des substances non métabolisables par les bactéries de la souche E. coli K12(λ) et E. coli B/r sont aussi actives que les autres.

7) L'ensemble des faits qui viennent d'être discutés semblent pouvoir être expliqués par l'hypothèse que la glycérine et les autres substances, agissent en se fixant réversiblement, sur les sites cellulaires sensibles aux radicaux créés par l'irradiation, en présence d'oxygène. Les molécules du protecteur bloqueraient ces sites, en quelque sorte, et les rendraient inaccessibles. Une hypothèse du même type a été formulée par Doherty (1952) au sujet de la radioprotection de la chymotrypsine par son substrat.

La nature des radicaux radioformés en aérobiose commence à être connue, s'il s'agit de l'eau pure. En l'absence d'oxygène, on aurait essentiellement H et OH. En sa présence, il se formerait en plus des radicaux HO₂. HO₂ est un acide faible dont le pK_a serait égal à 2,7 (Évans, Hush et Uri, 1952). Cela explique l'absence d'un effet du pH entre 4 et 9, sur la radiosensibilité des bactéries, et indiquerait que l'activité pourrait être liée aux

ions O_2^- puisque l'acide HO_2 est entièrement dissocié aux pH utilisés dans ce travail.

L'hypothèse avancée ici, constitue un schéma acceptable puisqu'elle rend compte, semble-t-il, des particularités de l'action de la glycérine.

a) L'allure des courbes de la figure 24 qui fait penser à des courbes de saturation.

b) La nature exponentielle de la courbe de survie.

c) L'absence d'additivité entre l'anoxie et la protection conférée par la glycérine.

On ne saurait dans cette discussion, s'appesantir sur la question de la radioprotection comparée chez les bactéries et chez les systèmes en apparence moins complexes que sont les bactériophages, les molécules du principe transformant du pneumocoque ou les molécules de colicine. La principale opposition semble résider dans l'absence ou l'existence d'un effet oxygène, dont le mécanisme est loin d'être élucidé.

Le fait que le bouillon à forte concentration protège les virus et pas les bactéries, peut être dû, soit à un pouvoir tampon du cytoplasme de ces dernières, soit peut-être au fait qu'avec les virus, les doses nécessaires sont considérables, et nécessitent des séjours prolongés des organismes dans le milieu irradié. Ainsi, par exemple, la dose de 10^5 r qui laisse 37 p. 100 de phages λ survivants, laisserait moins de 10^9 bactéries K12(λ) capables de se diviser. Or, avec ce phage, un effet toxique du milieu ne s'observe nettement dans de l'eau physiologique que pour des doses deux à trois fois plus élevées, dans nos conditions habituelles d'irradiation.

VI. — APPLICATION A L'ÉTUDE DE LA RADIOPROTECTION CHEZ L'ANIMAL PAR LA CYSTÉINE (MARCOVICH ET DUPLAN, 1956)

Les hypothèses concernant le mécanisme d'action de ce corps et, d'une façon générale, des substances à fonction —SH peuvent se ramener aux suivantes :

α) Les corps à fonction SH entrent en compétition avec des organites cellulaires, pour se combiner avec des radicaux, ou les corps toxiques radioformés (Alexander et coll., 1955, Bacq, 1955).

β) Les substances, telle la β -mercaptoéthylamine (cystéamine), formeraient des complexes labiles avec les protéines par l'inter-

médiaire de ponts — S — S —. Ils protégeraient, de la sorte, les fonctions SH des protéines, que l'on suppose, à la suite du travail de Barron (*loc. cit.*), être les plus radiosensibles (Eldjarn et Phil, 1955).

γ) Les substances à fonction SH, et plus spécialement la cystéine, agiraient en fixant l'oxygène du milieu, en raison de leur pouvoir réducteur élevé. Cette opinion fut exprimée par Patt et ses collaborateurs (1952) pour la souris, par Stapleton et coll. (1952) et par Gray (1955). Pour Salerno (1954), la cystéine produirait chez la souris un pur effet d'anoxie, tandis que la cystéamine aurait une action indirecte en anoxiant les cellules, à la suite d'un effet toxique mal défini. De son côté, Charlier (1954), dosant l'oxygène dans le sang d'un chien injecté de cystéine, trouve un abaissement de l'oxygénation et pense que ce fait ne suffit pas à rendre compte de la radioprotection par ce corps. Enfin, Gershamnn et coll. (1954) ont trouvé que la cystéine peut protéger la souris contre l'intoxication par l'oxygène à une pression élevée (plus de 6 atm.).

Quelles que soient les interprétations concernant le mécanisme d'action chez l'animal, des substances à fonction SH, ou de tout autre radioprotecteur, il n'en reste pas moins que les phénomènes de radioprotection sont d'une très grande généralité, puisque les mêmes corps sont actifs chez la plupart des organismes et avec une intensité qui est du même ordre de grandeur. En ce qui concerne les animaux plus spécialement, la complexité des réactions possibles avec ces corps, ne permet pas de postuler un mécanisme d'action certain ; en particulier, les doses de substances radioprotectrices utilisées sont toujours voisines de la dose léthale 50 p. 100 et la perturbation apportée à la respiration et aux métabolismes pourraient dans bien des cas entraîner une anoxie tissulaire.

Les méthodes d'analyse utilisées jusqu'ici ne permettent pas de reconnaître si, à côté de l'anoxie, il se forme, à la suite d'une réaction de l'animal, des substances responsables d'une partie de la radioprotection. Si tel est le cas, le plasma serait susceptible d'acquérir des propriétés radioprotectrices non spécifiques pouvant s'exercer sur des bactéries qui y seraient suspendues et irradiées. Cette éventualité a été testée de la manière suivante :

1) TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

Les animaux utilisés sont des lapins de 2,5 à 3 kg à jeun depuis la veille.

a) On leur injecte dans la veine marginale de l'oreille 1 000 unités internationales d'héparine par kg.

b) 4 à 5 mn après, on effectue un premier prélèvement de sang qui sert de témoin.

c) Ce prélèvement est immédiatement suivi d'une injection, dans la cavité péritonéale, d'une solution de 20 p. 100 de cystéine, à raison de 400 mg/kg. Cette solution, qui est fortement acide, est neutralisée juste avant d'être administrée.

d) 10 mn plus tard, un deuxième prélèvement est pratiqué.

e) Le plasma est ensuite isolé par centrifugation à 4 000 t/mn pendant 5 mn.

Toutes les manipulations *in vitro* sont conduites à 0 °C.

Les milieux dans lesquels les bactéries sont suspendues en vue de l'irradiation sont les suivants :

I. — Bouillon tryptone.

II. — Bouillon tryptone + cystéine à 1 p. 1 000.

III. — Bouillon tryptone + éthanol 1 M.

IV. — Plasma normal.

V. — Plasma normal + cystéine à 1 p. 1 000 ajouté *in vitro*.

VI. — Plasma d'animal ayant reçu de la cystéine *in vivo*.

Chacune de ces suspensions est en outre irradiée avec ou sans barbotage préalable d'oxygène, d'une durée de quelques secondes, après séjour variable à la glacière.

L'effet de l'irradiation sur les bactéries est évalué en dénombrant celles qui forment des colonies sur des boîtes de Pétri.

2) RÉSULTATS ET DISCUSSION

Ils sont résumés dans les tableaux XXIV et XXV. Dans ces expériences, l'éthanol sert de témoin de la « protectibilité » de la souche. Il apparaît que cette protection s'établit immédiatement, qu'elle n'est pas modifiée par un séjour de 90 à 120 mn à la glacière, et que le barbotage préalable d'oxygène n'influe pas sur elle. Au contraire, avec la cystéine ajoutée *in vitro*, il faut un certain temps pour que l'effet protecteur se manifeste. Il est complètement effacé par le barbotage d'oxygène.

Le plasma des animaux injectés de cystéine est radioprotecteur pour les bactéries, mais cet effet est complètement supprimé par l'oxygène. Le contrôle de l'anoxie plasmatique dans les expériences ci-dessus a été effectué, à l'aide d'un ampéromètre, par M. Pierre Joliot dans le laboratoire du professeur Wurmser. La réponse bactériologique est en bon accord avec les résultats des mesures physiques. Dans ces expériences, on voit que le plasma

TABLEAU XXIV

DURÉE DU SÉJOUR des bactéries dans le milieu avant l'irradiation	O ₂	DOSES de rayons X en r	MILIEU DE DILUTION BACTÉRIENNE					
			I	II	III	IV	V	VI
0 mn.	—	0	376 000	435 000	512 000	479 000	352 000	375 000
		45 000	266	520	7 690	217	6 350	6 500
0 mn.	+	0	445 000	544 000	519 000	399 000	339 000	454 000
		45 000	284	182	4 830	671	520	177
90 mn	—	0	498 000	497 000	465 000	273 000	294 000	307 000
		45 000	464	2 730	8 250	993	35 600	3 880
90 mn	+	0	488 000	444 000	491 000	294 000	272 000	278 000
		45 000	257	250	3 480	231	69	1 760

TABLEAU XXV

DURÉE DU SÉJOUR des bactéries dans le milieu avant l'irradiation	O ₂	DOSES de rayons X en r	MILIEU DE DILUTION BACTÉRIENNE			
			I	IV	V	VI
0 mn	—	0	457 000	466 000	326 000	466 000
		45 000	332	—	1 162	4 830
0 mn	+	0	518 000	510 000	445 000	363 000
		45 000	60	137	833	660
120 mn	—	0	—	525 000	367 000	336 000
		45 000	—	202	14 500	4 450
120 mn	+	0	—	609 000	376 000	427 000
		45 000	—	77	102	170

témoin n'exerce aucune activité protectrice par lui-même. Crowell (1953), a constaté que du plasma de rat ajouté à une suspension de lymphocytes ne les protégeait pas contre les effets des radiations.

De pareils résultats ont été obtenus en utilisant des rats et sont reproductibles aussi bien avec les souches de *E. coli* K12(λ) et de B/r. Il semble qu'on peut raisonnablement extrapoler du plasma au milieu intérieur, et conclure de ces expériences que la protection animale par la cystéine ressortit, très probablement à un mécanisme anoxique. Si des substances étaient produites, et si elles étaient en cause dans le mécanisme de la radioprotection animale, le test bactérien n'en a pas montré l'existence, à moins de supposer qu'elles sont instantanément détruites par un barbotage d'oxygène.

VII. — CONCLUSION

Dans la majorité des cas (peut-être dans tous), où un effet radioprotecteur d'une substance a été mis en évidence chez les animaux, ou chez les bactéries, il semble que le mécanisme de l'activité soit en dernier ressort, une anoxie. Le seul exemple où cette éventualité peut être écartée avec un bon degré de certitude, est celui qui vient d'être étudié, et dont le modèle est fourni par la glycérine. Cependant, ici, bien que l'oxygène ne soit pas directement en cause, tout se passe comme si la glycérine et les alcools « supprimaient » l'effet oxygène.

Nous avons cité plus haut des exemples de radioprotection d'animal par l'éthanol ou la glycérine. De leur côté, Loiseleur et Baclesse (1947) ont montré l'existence d'une radiorésistance cutanée du lapin en hyperglycémie provoquée. Il ne nous paraît pas que dans ces exemples le mécanisme en cause puisse être analogue à celui qui a été envisagé plus haut pour les bactéries. Il faudrait, pour cela, réaliser des concentrations incompatibles avec la vie de l'animal, ou admettre que ses cellules sont particulièrement sensibles à l'activité radioprotectrice de ces corps. Il nous semble plus satisfaisant d'admettre, jusqu'à preuve du contraire, qu'un processus anoxique d'origine métabolique, toxique ou circulatoire est en cause. Cette conclusion rejoint celle de Lacassagne (1953) qui pensait que « le mécanisme de la radiorésistance provoquée ou autrement dit celui de la protection biologique contre les radiations, paraît se ramener presque toujours à un empêchement des réactions d'oxydations

secondaires, dues à des agents oxydants libérés par l'irradiation ».

Dans l'état présent de la question de la radioprotection chimique, le problème chez l'homme reste entier. En raison du faible facteur de réduction de la dose attaché à l'effet oxygène, en raison des inconvénients qu'il y aurait à créer une anoxie trop poussée, toute substance radioprotectrice dont l'activité serait liée, directement ou non, à l'effet oxygène, paraît actuellement difficilement utilisable en pratique humaine.

Pareillement, en ce qui concerne la radiosensibilité des êtres vivants, les mécanismes de défense que l'on pourrait imaginer sur le modèle des phénomènes connus en matière de radioprotection chimique, ne paraissent pas devoir avoir une grande efficacité.

Signalons les essais de Gray et coll. (1953), qui traitèrent par rayons X des cancers greffés chez les souris, maintenues dans une hyperpression d'oxygène. Ces auteurs se fondent sur l'observation que la partie centrale des tumeurs est en anoxie relative, et que l'oxygène peut augmenter leur radiosensibilité selon un facteur supérieur aux tissus normalement irrigués.

CHAPITRE IV

ÉTUDE D'UNE POPULATION DE BACTÉRIES LYSOGÈNES EN MULTIPLICATION DANS UN CHAMP CONSTANT DE RAYONS γ

Dans les expériences décrites plus haut, une des conditions que l'on s'était attaché à respecter était l'immuabilité du système biologique pendant la durée de l'irradiation. Pour cela, les bactéries étaient mises à une température voisine de 0 °C, et les débits de rayons X étaient aussi élevés que possible.

Le problème de l'action des radiations ionisantes, agissant avec de très faibles débits, comporte un élément d'incertitude lié au fait que les organismes irradiés sont susceptibles d'évoluer pendant leur exposition. Si l'irradiation est trop prolongée, et si les conditions physiologiques sont favorables, il peut se produire des divisions cellulaires. Or, on sait que la radiosensibilité des diverses étapes d'un cycle de division est très inégale et qu'à cet égard une population de cellules peut être hétérogène. De plus, la structure génétique de cette population se trouve modifiée à un degré plus ou moins grand, selon le débit du rayonnement, et selon les conditions sélectives qui pourraient avoir prise sur certaines mutations.

Un autre facteur capable de compliquer l'analyse réside dans la possibilité d'une « adaptation » aux effets indirects. Un exemple de la possibilité d'une telle éventualité a été décrit par Blinks (1952). Étudiant l'équipement enzymatique des algues de l'atoll de Bikini après l'explosion d'une bombe A, il trouva que la teneur en catalase était augmentée par rapport à la normale. Pour sug-

gestive que soit cette observation, l'explication qu'il pourrait s'agir d'une adaptation enzymatique à un taux accru de peroxydes reste à prouver.

Les expériences utilisant la technique des irradiations continues, n'ont été rendues praticables avec des débits élevés que depuis la diffusion des radio-éléments artificiels, aussi ont-elles été jusqu'ici peu nombreuses.

Un des premiers essais est dû à Heublein (1932). Partant de l'idée que la radiorésistance acquise des cancers traités par les radiations ionisantes pourrait être liée au fait que les cellules tumorales sont exposées pendant une phase de leur cycle de division peu radiosensible, il soumit des cancéreux en irradiation totale, à un rayonnement X dur d'un tube de radiothérapie qui fonctionnait 8 h par jour. Le débit était, selon les malades, de 0,68 à 1,26 r par jour, et des doses globales de 750 r furent administrées. Les résultats ont été négatifs. Bagg (1938), fit des expériences analogues sur le sarcome 180 du rat, transmis par greffe. Les doses étaient de 2,72 r par jour. Aucune guérison ne fut enregistrée. Par contre, les tumeurs purent être transmises par greffes successives, et furent irradiées de la sorte pendant 16 mois. Elles reçurent ainsi près de 23 000 r. Ce traitement ne parut pas modifier d'une manière quelconque l'aspect ou la vitalité des cellules cancéreuses. Une telle dose, administrée en quelques heures, aurait stérilisé les greffons.

De leur côté, Lorenz et ses collaborateurs (1947), ont recherché l'influence d'irradiations prolongées sur la fréquence de cancers et de leucémies induites par les rayons γ du radium. Ils soumirent des souris, des lapins et des cobayes à des doses journalières de 8,8 à 1,1 r en expositions de 8 h par jour. Les doses les plus considérables accumulées étaient de 5 900 r pour les souris, de 6 000 r pour les cobayes, et de 12 000 r pour les lapins. Mis à part les seconds, dont le système hématopoïétique est particulièrement radiosensible, les effets somatiques furent peu importants. Cependant, la fréquence des cancers pulmonaires et des leucémies était augmentée en fonction de la dose reçue. Ce facteur aboutit à une réduction de la durée de la vie des animaux irradiés, par rapport aux témoins.

Sparrow et Singleton (1953) exposèrent des plantes à l'action d'un flux de rayons γ d'une source de radiocobalt. Les doses variaient entre 0,1 et 2 000 r par jour. La tolérance à ces irradiations dépendait considérablement des plantes étudiées. Ainsi des lésions sévères se produisaient chez *Tradescantia paludosa* avec 30 r par jour, tandis que *Gladiolus* était peu affecté par

2 000 r par jour. Le taux des mutations induites pour quatre caractères de l'endosperme chez la première ne fut affecté que par des débits supérieurs à 5 r par 24 h. Selon Singleton (1954), l'efficacité mutagène était d'autant plus grande que le débit était plus élevé. Enfin, Richter et Singleton (1955), signalent que chez des œillets irradiés avec 1,2 à 210 r par jour pouvaient s'observer des mutations somatiques transmissibles par voie végétative.

* * *

En raison des populations considérables sur lesquelles on peut expérimenter, en raison de leur vitesse de multiplication élevée, en raison de la relative simplicité des réponses des micro-organismes si on les compare à celles des organismes supérieurs, les bactéries se prêtent bien à une étude sur l'action d'une irradiation à flux constant sur une population de cellules en division.

Dans les expériences que nous allons décrire, ont été envisagées les deux questions suivantes :

1) La radiosensibilité d'une population bactérienne subit-elle une modification au bout d'un certain nombre de générations passées sous l'irradiation ?

2) Quelle est l'influence de la vitesse de multiplication sur cette radiosensibilité ?

Cette étude a été faite à l'aide de la souche d'E. coli K12(λ) sur laquelle ont été pris comme tests, le phénomène de l'induction et l'action léthale des rayons γ .

A. — MATÉRIEL ET TECHNIQUE

a) Les souches bactériennes et les milieux de culture ont été décrits plus haut.

b) APPAREIL DE CULTURE CONTINUE

α) *Principe*. — Soit une culture bactérienne entretenue sous un volume constant V dans un récipient dans lequel arrive, continuellement, du milieu nutritif avec un débit v . La constance de V est assurée par une évacuation de milieu de débit égal à v .

Soit $\frac{v}{V}$ le « taux de dilution », et soit μ le taux de croissance défini par le nombre de divisions bactériennes par unité de temps, dans un milieu supposé infini. On peut montrer que, si dans le milieu neuf qui arrive constamment dans le récipient de

culture, il existe un métabolite ou un facteur de croissance dont la concentration est limitante, c'est-à-dire qu'elle correspond à l'épuisement de ce facteur avant tous les autres, il finit par s'établir un équilibre : la densité bactérienne atteint une valeur constante à la condition que :

$$\frac{v}{V} \leq \mu \log_e 2 \quad (\text{d'après Monod, 1950}).$$

Dans le cas contraire, la culture ne cesse de se diluer. Si l'expression ci-dessus est satisfaite, la culture tend vers un équilibre, quelle que soit l'importance de l'inoculum initial et son taux de croissance, soit μ_2 devient égal à :

$$\mu_2 = \frac{v}{V \cdot \log_e 2}.$$

Ce taux est, par conséquent, immédiatement connu dans les conditions d'équilibre, et en principe ne dépend pas du milieu de culture. Cependant, si le milieu est complexe (par exemple du bouillon), de nombreuses inconnues existent sur la nature des facteurs limitants, et par conséquent sur les circonstances physiologiques du maintien de l'équilibre. Dans les expériences qui seront décrites, on a utilisé du bouillon pour avoir le plus grand nombre de générations dans l'espace de temps le plus court, et pour éliminer l'éventualité d'une action indirecte. Pour étudier de façon plus précise l'influence du temps de génération, on a utilisé le milieu synthétique décrit page 10, dans lequel le glucose à la concentration de 4 p. 1 000 sert de facteur limitant.

Dans les calculs qui seront effectués par la suite, on utilisera le temps de génération $g = 1/\mu$ au lieu du taux de croissance.

β) *Description*. — L'appareil utilisé ici est inspiré du chémostat de Novick et Szilard (1950). Des modifications y ont été apportées pour permettre la mise en place d'une source de radium et pour pouvoir effectuer une irradiation aussi homogène que possible avec le débit le plus élevé.

Cet appareil est construit en verre pyrex. Les différentes parties sont raccordées entre elles par des joints rodés sphériques. Il est composé des pièces suivantes (fig. 24) :

Un vase de culture de 25 cm³ de capacité (1), constitué par un tube de verre à fond plat. Il est muni d'un siphon capillaire (s) dont la contenance est de 0,2 cm³, ce qui est nécessaire afin d'éviter la stagnation des bactéries hors du vase de culture dans

des conditions incontrôlées. Un agitateur magnétique (*ag*) assure le brassage de la suspension bactérienne. L'aération (*aé*) est effectuée par une arrivée d'air *au-dessus* du niveau du liquide. On évite, ainsi, la formation de mousse qu'entraînerait le passage de bulles de gaz dans le liquide.

Un réservoir de milieu nutritif (2). Il se compose d'un ballon

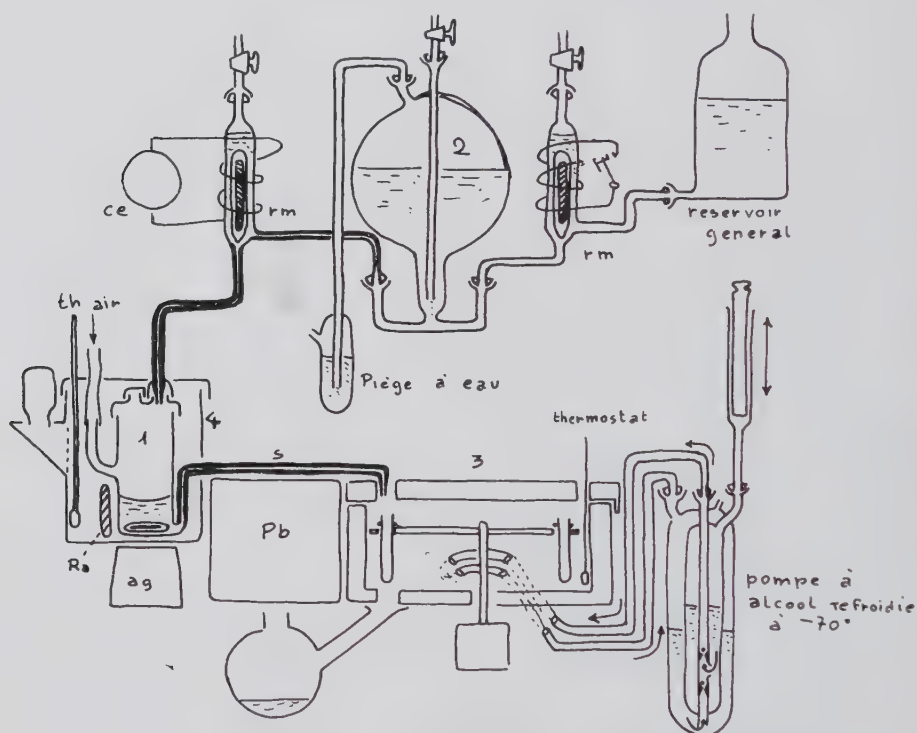


FIG. 24. — Appareil à culture continue.

de 2 litres dont le pôle supérieur est traversé par un tube axial (*t*) destiné à assurer la constance de la pression du liquide. A la partie inférieure se trouvent deux ouvertures. L'une permet au milieu nutritif de se déverser vers le vase de culture, l'autre de réapprovisionner le ballon en milieu neuf.

Le débit est réglé par un robinet magnétique (*rm*) dont l'ouverture est commandée par un contact électrique réglable (*ce*). Cette ouverture a lieu toutes les minutes, et c'est sa durée qui détermine le débit du milieu écoulé.

Un appareil à prélèvements automatiques (3) recueille à inter-

valles réguliers des échantillons du liquide qui s'écoule par l'extrémité du siphon, et les conserve à 2 °C environ.

Le vase de culture se trouve placé dans une enceinte (4) à 37 °C, dont la température est réglée par de l'air chaud.

La source de rayons γ (*Ra*) est constituée par une couronne d'aiguilles de radium de 433 mg, avec une filtration de platine de 0,5 mm. La dose fournie à la suspension bactérienne a été évaluée en utilisant le test de l'induction décrit plus haut ; les mesures ont porté sur une suspension de bactéries K12(λ) placée dans le vase de culture sous un volume de 25 cm³, et exposée à 0 °C à la source de radium pendant 30 mn. Cette dose est de 14 r par minute.

Les échantillons conservés dans l'appareil à prélèvement automatique sont protégés du rayonnement par une épaisseur de plomb de 15 cm. La dose qu'elles reçoivent dans ces conditions est de l'ordre de 10⁻³ r pour un séjour d'une minute ; or celui-ci ne dépasse pas 18 h.

B. — CONDUITE DES EXPÉRIENCES

Des bactéries de la souche K12(λ) en fin de la période de croissance exponentielle, sontensemencées dans le vase de culture sous un volume de 1 cm³. On fait fonctionner le régulateur de débit à l'allure désirée, et on laisse la culture atteindre l'équilibre. Il se passe 18 à 24 h avant que le premier prélèvement soit effectué. La source de radium n'est mise en place qu'après une dizaine d'heures supplémentaires.

Sur les échantillons prélevés par l'appareil automatique, on détermine, d'une part le nombre *b* de bactéries vivantes en faisant un étalement sur des boîtes de Pétri, d'autre part le nombre de phages libres *p* en étalant la culture avec la souche indicatrice résistante à la streptomycine, et en présence de 2 000 γ de l'antibiotique par boîte de Pétri.

Le rapport *p/b* constitue une mesure de l'action inductrice, car on a vu plus haut, que le rendement moyen en phages des bactéries induites par les rayons X, ainsi que la durée de la période latente, sont indépendants de la dose.

Dans les expériences de longue durée, qui couvrent plusieurs jours, on constate très tôt que les bactéries ont tendance à adhérer aux parois du vase de culture, et à sédimenter dans le siphon qui en part. De plus, au bout de 48 h, le réservoir a tendance à s'infecter par voie récurrente, à partir du vase de culture. Cela oblige à changer le vase de culture deux fois par jour, et

le réservoir toutes les 24 h. Le montage de l'appareil est conçu en tenant compte de cette nécessité ; l'opération peut être effectuée en 1 à 2 mn. Les résultats ne sont pas influencés par cette pratique.

C. — RÉSULTATS

1) Dans une première expérience, on a recherché si les bactéries, après avoir été exposées aux rayons γ pendant quelques générations et soustraites à leur influence, reviennent à la normale en ce qui concerne la production des bactériophages.

La figure 25 représente la courbe de variation de p/b dans

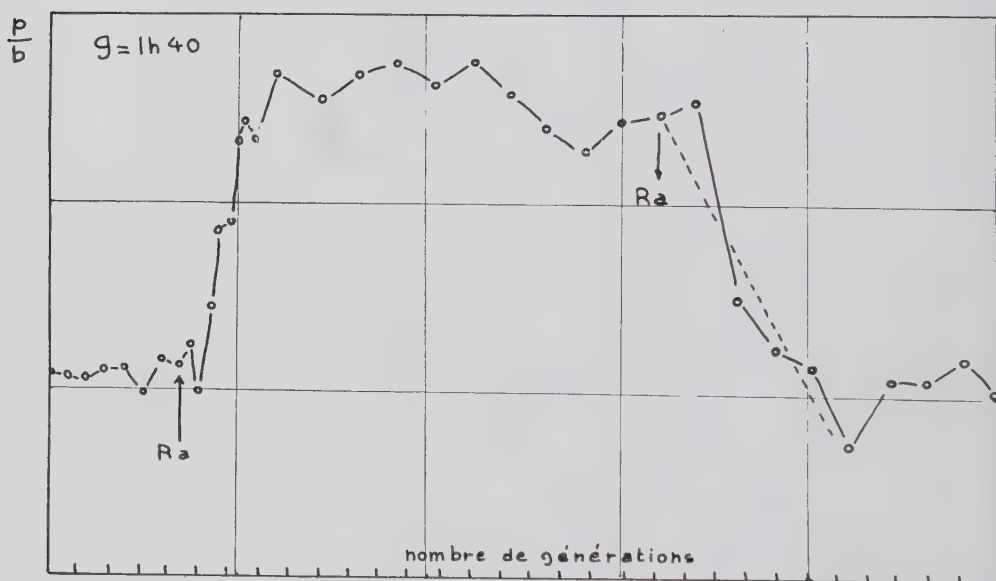


FIG. 25. — Évolution du rapport p/b dans une culture de bactéries K12(λ), en bouillon, exposée pendant près de 17 générations à des rayons γ du radium.

$Ra \uparrow$ = mise en place de la source de radium. — $Ra \downarrow$ = ablation de la source. ———— Courbe théorique de décroissance de p/b dans le cas d'une dilution par 2 à chaque génération.

une culture, effectuée en bouillon de manière à réduire l'éventuelle influence d'effets indirects. On voit que la mise en place de la source de radium est suivie d'une rapide montée de p/b après une latence de près d'une heure. Ce rapport atteint en une dizaine d'heures, un palier qui se maintient aussi longtemps que la source de rayons γ est en place, soit pendant près de 15 générations. Si l'on retire le radium, p/b décroît, pour reve-

nir exponentiellement au taux antérieur : à chaque génération, le phage paraît subir une dilution de moitié.

2) Dans l'expérience suivante (fig. 26), on a cherché à étudier sur un nombre de générations aussi grand que possible, l'évolution de p/b . Afin d'avoir une vitesse de multiplication aussi grande que possible, on a utilisé du bouillon. Après plus de 75 générations passées sous l'irradiation le palier auquel atteint le rapport p/b se maintient sans changement apparent. Si en cours d'expérience on prélève un échantillon et on le dilue dans

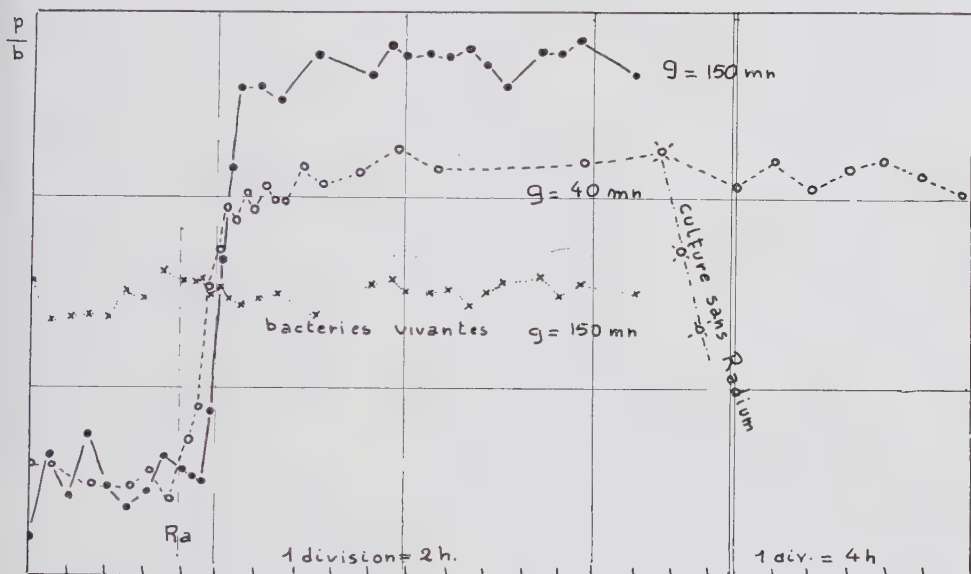


FIG. 26. — Variations du rapport p/b dans des cultures de $K12(\lambda)$ en bouillon.

du milieu neuf en l'absence de rayons γ , on constate que p/b décroît exponentiellement.

Sur la même figure on a représenté les résultats d'une expérience réalisée dans le même milieu, avec une vitesse de multiplication plus faible. On voit que la mise en place du radium est suivie d'une montée aussi rapide que dans le cas précédent. Toutefois, ce palier se trouve plus haut. Dans les deux cas la densité bactérienne reste constante.

3) Figures 28 et 29. Dans ces expériences sont représentées les courbes de variation de p/b et celles du nombre de bactéries vivantes dans des cultures effectuées dans du milieu synthétique, avec des temps de génération de 4 h et de 2 h. On cons-

tate que p/b est plus élevé, là où la vitesse de multiplication est plus faible : parallèlement, la densité bactérienne décroît vers un nouvel équilibre. Dans les deux expériences, le palier est atteint dans les mêmes délais et le titre en phages, dans le milieu de culture, ne s'élève qu'une soixantaine de minutes après le début de l'irradiation.

D. — DISCUSSION

Soit N_0 le nombre de bactéries ensemencées dans le vase de culture et soit f la probabilité pour qu'une bactérie se lyse au cours d'un intervalle de temps égal à la durée d'une génération. Soit g le temps de génération. On suppose qu'au début de l'expérience, il n'existe dans la suspension aucun phage libre. Au temps 0 on a évidemment N bactéries et 0 phages.

Au temps g on a $N_0(2-f)$ bactéries vivantes et Nf induites.

Au temps t , il y a $N_0(2-f)^{t/g}$ bactéries vivantes.

Le nombre N_i de bactéries induites, depuis le début de l'expérience, est la somme de toutes celles qui l'ont été depuis le début de la culture, soit :

$$N_i = fN_0 \int_0^{\frac{t}{g}} (2-f)^{t/g} dt = fN_0 \frac{(2-f)^{\frac{t}{g}} - 1}{\text{Log}(2-f)} \quad (25)$$

Soit r le rendement moyen, en bactériophages, des bactéries qui se lysent et l la durée de la période latente ; les phages libres dans le milieu au temps t proviennent des bactéries qui ont été induites entre le temps 0 et $t - \frac{l}{g}$, par conséquent le nombre p de phages au temps t est :

$$p = fN_{or} \frac{(2-f)^{\frac{t-l}{g}} - 1}{\text{Log}(2-f)}. \quad (26)$$

Le rapport p/b du nombre de phages à celui des bactéries est alors au temps t :

$$p/b = fr \frac{(2-f)^{\frac{t-l}{g}} - 1}{\text{Log}(2-f)} - fr \frac{1}{(2-f)^{\frac{t-l}{g}} \text{Log}(2-f)}. \quad (27)$$

Quand $t \rightarrow \infty$

$$p/b \rightarrow fr \frac{(2-f)^{-n}}{\text{Log}(2-f)}. \quad (28)$$

On voit que si dans l'expression 27, t/g est de l'ordre de 6 à 10, p/b est voisin de sa valeur limite.

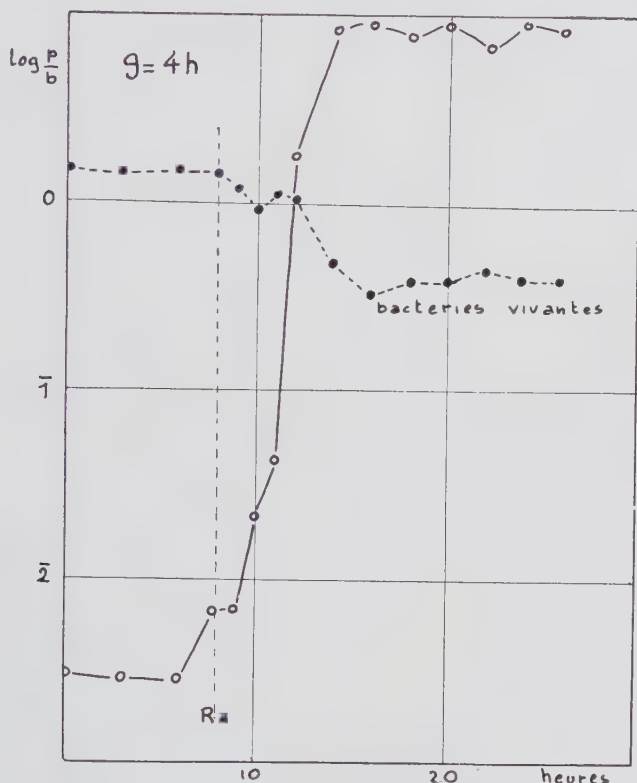


FIG. 27. — Culture de K12(λ) en milieu synthétique. Temps de génération : 4 h. La courbe des bactéries est tracée à un niveau arbitraire de l'échelle des ordonnées.

A l'aide de l'expression 27, on peut évaluer f . Cependant ni r , ni l ne sont connus avec certitude. On peut en faire une estimation raisonnable en prélevant un échantillon dans le vase de culture, et en étudiant en tube à essai, la période latente et le rendement en phages après une irradiation de courte durée. On trouve que r et l sont les mêmes que ceux observés plus haut,

c'est-à-dire $l = 55$ mn et $r = 120$ mn environ. Par ailleurs, on a vu que la montée du taux du phage libre dans le vase de culture ne commence qu'une heure après la mise en place de la source de radium.

En adoptant les valeurs ci-dessus, on trouve que pour l'expérience 27, la fréquence des bactéries induites est, après la mise en place du radium de 0,055 par bactérie, par génération, tandis que dans l'expérience 28 elle est de 0,032. Le rapport des deux fréquences est donc du même ordre de grandeur que celui des temps de génération. La même méthode de calcul appliquée aux expériences de la figure 26 fournit les valeurs de 0,038 et de 0,022 pour la fréquence des bactéries induites en bouillon, avec des temps de génération de 150 mn et de 40 mn.

Il serait hasardeux de vouloir obtenir une meilleure estimation, étant données les incertitudes attachées à de tels calculs, surtout pour les expériences en bouillon. Les indications fournies par ces expériences conduisent cependant à une conclusion logique, à savoir que l'effet d'une irradiation à flux constant est d'autant plus grand que la dose par génération est plus élevée. Avec le test de l'induction, on ne peut allonger par trop le temps de génération car l'aptitude des bactéries à être induites est modifiée par la carence, ce que produit un ralentissement par trop prononcé du débit.

On voit dans les figures 27 et 28 qu'après la mise en place de la source de radium, la densité de la culture bactérienne décroît pour atteindre un nouveau palier, dont le niveau correspond à un nombre de bactéries vivantes, près de deux fois plus faible que le nombre initial. La fréquence des bactéries induites, évaluée d'après le nombre de phages libres est beaucoup trop faible pour rendre compte de cette baisse. On peut en conclure qu'il existe un effet léthal important non attribuable aux inductions productives de phages. Des essais analogues effectués avec la souche non lysogène KI2S ne montrent pas une telle baisse. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment analysés (p. 52) sur les courbes d'induction et de survie. Les conclusions sont les mêmes, à savoir qu'il existerait un effet léthal associé à l'induction n'aboutissant pas à la production de phages mûrs. Il est, par définition, lié à des inductions abortives.

Le palier auquel atteignent les bactéries survivantes dans ces expériences possède la signification suivante : la densité bactérienne est limitée par un métabolite, le glucose. La vitesse de multiplication s'ajuste sur la vitesse de renouvellement du

milieu dans le vase de culture. Si une circonstance, comme l'irradiation tue une fraction des bactéries, les individus survivants disposent d'un excédent de facteurs nutritifs. Ils peuvent par conséquent, accroître leur vitesse de multiplication. Dans ces conditions, on sous-estime, d'une quantité qu'il est malaisé de connaître, la valeur du taux de croissance.

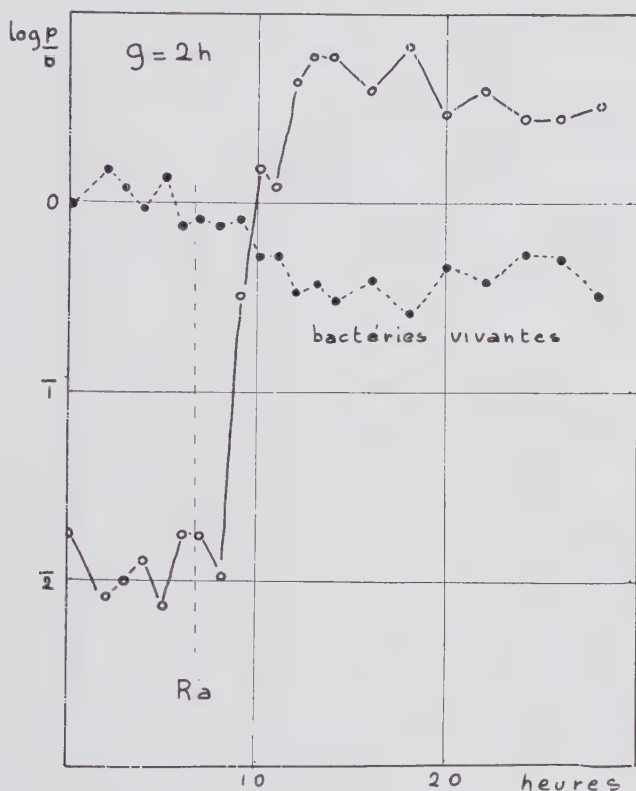


FIG. 28. — Culture de K12(λ) en milieu synthétique. Temps de génération : 2 h. La courbe des bactéries est tracée à un niveau arbitraire de l'échelle des ordonnées.

L'estimation de la dose reçue par génération se trouve donc entachée d'une incertitude par excès. Cependant, comme le nombre de bactéries est sensiblement le même dans le vase de culture, ce facteur doit être d'une importance relativement faible.

L'expression (28) peut permettre d'évaluer la fréquence des inductions spontanées, moyennant l'hypothèse que la période latente et le rendement moyen des bactéries en phages, sont les

mêmes que ceux observés avec les rayons X. Pour les expériences 28 et 29, on trouve respectivement les valeurs de $3 \cdot 10^{-5}$ et $0,8 \cdot 10^{-4}$. Dans le cas des cultures en bouillon, on a $0,8 \cdot 10^{-3}$ pour le temps de génération de 150 mn, et $0,3 \cdot 10^{-3}$ pour celui de 40 mn.

En résumé, les résultats qui viennent d'être analysés montrent que la probabilité de lyse est fonction de la dose par génération, et qu'il n'a pas été mis en évidence de phénomènes pouvant suggérer l'éventualité d'une « adaptation » de la population bactérienne au flux constant de rayons γ . Il n'a pas, non plus, été constaté d'effets durables sur les bactéries qui n'ont pas été le siège d'un événement inducteur : sitôt que cesse l'irradiation, le nombre de phages subit une décroissance exponentielle, comme si la probabilité de lyse était revenue, à la normale sans délais appréciables.

CHAPITRE V

RADIATIONS IONISANTES NATURELLES ET MATIÈRE VIVANTE

Dans les chapitres précédents, ont été abordées quelques questions du problème de l'action biologique des radiations ionisantes à l'aide du système lysogène de K12. L'existence du phénomène de la lysogénie avec sa grande sensibilité, le fait de pouvoir explorer plusieurs propriétés étroitement liées, permet d'aborder les points suivants :

1) Que devient la relation entre la dose et l'effet pour de très petites doses ?

2) Par quel mécanisme agissent les facteurs modificateurs de la radiosensibilité ? Peut-on envisager leur intervention pour diminuer l'efficacité d'une irradiation faible ?

3) Quels sont, dans une population d'organismes en multiplication dans un champ de radiations ionisantes, les facteurs qui influent sur la radiosensibilité ?

Un certain nombre de déductions ont été faites à partir des résultats expérimentaux, et l'on a tenté de les étendre à d'autres systèmes biologiques que les bactéries. En particulier, on a considéré le cas de l'action génétique.

Les conclusions auxquelles on était parvenu, pour autant que le modèle bactérien soit représentatif des cas plus complexes, sont les suivantes :

1) Il est peu probable qu'il y ait une baisse de l'efficacité biologique, encore moins un phénomène de seuil pour l'activité des très petites doses sur le matériel génétique.

2) Actuellement, il paraît difficile de se représenter une telle baisse d'efficacité, ou un tel seuil sur la base de ce que l'on sait, des facteurs modificateurs de la radiosensibilité.

3) Quand une population de cellules se divise dans un champ de rayons ionisants, un élément important de la sensibilité aux ionisations est la vitesse de multiplication, et son corollaire, la dose reçue par génération.

Ces quelques remarques vont nous permettre d'aborder brièvement une discussion sur le problème de l'action biologique des radiations ionisantes naturelles.

A. — LES RADIATIONS IONISANTES NATURELLES

On sait que les ionisations que l'on détecte à la surface de la Terre sont liées à deux sources de rayonnements. L'une est constituée par le rayonnement cosmique, l'autre est formée par l'ensemble des corps radioactifs qui entrent dans la constitution des organismes et des matériaux environnants.

a) LE RAYONNEMENT COSMIQUE

Selon les dernières estimations, la dose fournie au niveau de la mer est de 0,03 r par an (Tobias, 1952). Le débit est peu variable avec la latitude. Par contre, à cause de l'absorption atmosphérique, ce débit croît avec l'altitude du fait surtout de la composante molle. A 5 000 m l'ionisation liée à la radiation cosmique est décuplée par rapport au niveau de la mer. En plus de l'ionisation qu'ils produisent directement, les rayons cosmiques sont responsables de la formation de corps radioactifs, tel le ^{14}C , dont l'influence est cependant très réduite.

b) Les corps radioactifs de l'écorce terrestre contribuent pour une fraction plus importante, à l'ionisation totale. L'irradiation à laquelle les êtres vivants sont exposés de leur fait, dépend, d'une part de la constitution des roches de l'environnement, d'autre part des radioisotopes incorporés dans les organismes mêmes.

Libby (1955), estime que les matériaux ambiants fournissent près de 0,09 à 0,2 r annuels. Dans quelques rares cas, dans certaines régions granitiques par exemple, cette contribution pourrait être de 0,5 r. Parmi les isotopes radioactifs des tissus, le potassium 40 est celui dont l'importance est la plus grande. On calcule que, du fait de sa radioactivité propre, un homme reçoit près de 0,015 r par an (Burch et Spiers, 1954). Si l'on addi-

tionne les causes d'irradiation qui viennent d'être citées, on arrive à une valeur globale de 0,2 à 0,3 r pour la dose annuelle reçue par l'espèce humaine et probablement par les animaux terrestres.

L'irradiation que subissent les organismes marins est plus faible, à cause de la moindre concentration des corps radioactifs dans l'eau et de l'absorption d'une partie de la radiation cosmique.

c) Ces évaluations conduisent à une valeur globale du taux de l'ionisation naturelle. Elles ne prennent pas en considération le fait qu'il existe, dans cette radiation, des particules lourdes de grande énergie, qui créent des colonnes d'ions serrés. Toutefois cette cause ne paraît pas devoir fournir plus de 10 p. 100 de l'ionisation totale, laquelle ressortit essentiellement aux rayons γ et β .

B. — *LE PROBLÈME DE L'ACTION BIOLOGIQUE DE L'IONISATION NATURELLE*

L'expérimentation, effectuée sur les systèmes biologiques au moyen de l'ionisation naturelle, consiste surtout à en modifier le débit en agissant sur le rayonnement cosmique.

En travaillant à haute altitude, on accroît l'importance de la composante molle. Au contraire, en utilisant des protections de plomb, on réduit ce débit, mais surtout on change la composition du rayonnement du fait de la création de gerbes.

La faible sensibilité des êtres vivants, si l'on se réfère au débit des rayons ionisants naturels, rend fort difficile et assez aléatoires des expériences qui porteraient sur un système de radiosensibilité courante, et avec des expositions de durée raisonnable.

Ce problème a, néanmoins, fait l'objet d'un nombre considérable de travaux. Les effets les plus différents ont été recherchés, telle par exemple l'induction de mutations chez la *Drosophile*, ou l'action cancérogène chez la souris. Hess et Eugster (1948), en donnant une revue très détaillée, d'où il ressort que des effets certains auraient été observés. Il s'agirait, en particulier, de l'action des gerbes produites dans des lames de plomb de 2 cm d'épaisseur par la composante dure [action cancérogène décrite par Figge (1947), non retrouvée par George et ses collaborateurs (1949)].

Les effets observés sont en général à la limite de la signification. Une analyse statistique est nécessaire pour apprécier le

degré de confiance que l'on peut accorder aux écarts enregistrés entre le matériel exposé aux gerbes et les témoins. Quand on sait la variabilité à laquelle est sujet tout système biologique, si bien connu soit-il, on ne saurait souscrire sans réserves aux conclusions de ces auteurs. Cette réserve est encore renforcée par la petitesse des doses que sont supposés avoir reçu les organismes dans les expériences citées. Elles seraient de l'ordre de 10^{-1} à 10^{-3} r. Les auteurs pensent, à cause de cela, que les gerbes de plomb auraient une efficacité biologique particulièrement grande, notamment parce que l'énergie des particules lourdes est très élevée. Il ne nous paraît pas qu'une telle conclusion soit fondée, étant donnée la valeur des résultats expérimentaux sur lesquels elle se base.

Pour ce qui est des bactéries de la souche E. coli K12, on a vu plus haut qu'en dépit de la sensibilité des mesures, il n'a pas été mis en évidence une action de la radiation cosmique pendant une expérience, il est vrai fort courte, de 24 h.

a) LES RADIATIONS IONISANTES NATURELLES ET LE MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Lorsque Muller découvrit l'activité mutagène des radiations ionisantes, la question de savoir quelle part pouvait être attribuée aux ionisations naturelles dans l'étiologie de la mutabilité spontanée, se trouva posée. En 1930, Muller et Mott-Smith, extrapolant vers les faibles doses la relation dose-effet observée dans l'induction de mutations chez la Drosophile par les rayons X, montrèrent qu'il s'en fallait d'un facteur 1 000 pour que l'ionisation naturelle puisse être tenue pour responsable des mutations spontanées. Se reportant à des données plus récentes, Muller (1954 b) retrouve la même conclusion.

Pour d'autres organismes, l'écart est encore plus grand. Ainsi, chez une souche de colibacille (E. coli B/r), il apparaît $0,5 \cdot 10^{-8}$ mutants spontanés résistants au phage T1 par bactérie et par génération. Or, avec 10^5 r on induit la mutation chez 10^{-6} survivants à l'irradiation. Il en résulte que la mutabilité naturelle correspondrait, si elle était liée à des ionisations, à une dose de l'ordre de 500 r, par bactérie et par génération (Demerec et Latarjet, 1945). En supposant qu'une génération dure entre 30 et 60 mn, et en adoptant pour valeur de la dose annuelle, 0,2 r, on voit que cette cause ne saurait être tenue pour responsable de plus d'une mutation sur 10^6 environ.

Une des raisons les plus apparentes du faible rôle des ionisations naturelles, dans les exemples qui viennent d'être évoqués,

semble résider dans la durée relativement courte des générations des organismes considérés.

Pour les espèces à temps de génération long, il ne semble pas que le rôle de l'ionisation naturelle soit aussi restreint. La dose que serait susceptible de recevoir le génôme humain, du fait des ionisations naturelles, varie entre 3 et 6 r dans l'espace d'une génération évaluée à une trentaine d'années.

La radiosensibilité du génôme humain est très mal connue. Sa mutabilité naturelle serait pour différentes tares, de l'ordre de $1,2$ à $8 \cdot 10^{-5}$ par individu et par génération (Haldane, 1949). En se fondant sur les résultats de Russell (1952) sur la radiosensibilité du génôme de la souris, Müller (1954 a) estime qu'il faudrait 80 r pour faire doubler le taux des mutations humaines ; Wright, dès 1950, avait indiqué qu'une valeur aussi basse que 3 r serait une limite inférieure. Pour Neel et Shull (cités par Westergaard, 1955), cette dose pourrait être comprise entre 3 r et 150 r, sans que l'on puisse actuellement conclure avec une meilleure sécurité. Toutefois, Westergaard pense que les valeurs basses ne seraient pas trop improbables. Telle est aussi l'opinion de Haldane (1955). En fait il n'existe pas d'observation indiscutable de mutations induites chez l'homme par les radiations ionisantes (Neel et coll., 1953 ; Macht et coll., 1955).

Il résulte, par conséquent, des idées admises sur la radiosensibilité du génôme de l'homme que les ionisations naturelles pourraient jouer un rôle non négligeable dans l'étiologie de ses mutations.

b) ACTION DES IRRADIATIONS DE FAIBLE DÉBIT SUR LES CELLULES SOMATIQUES

Quand on soumet des individus à un rayonnement ionisant de faible débit, des effets somatiques peuvent s'observer. Mayneord (1951), signale des modifications de la formule sanguine avec des irradiations totales de 0,1 r par semaine. Helde et Wahlberg (1953) arrivent à la même conclusion.

Dans l'état présent des données sur l'action somatique des irradiations sous faible débit, il paraît raisonnable d'admettre que l'ionisation naturelle serait à l'origine de la destruction de quelques cellules. Néanmoins, il ne saurait y avoir de retentissement sur l'ensemble d'un tissu, ou d'un organisme entier.

Quant à l'action cancérigène, dans l'ignorance où l'on est de son mécanisme, on pourrait admettre qu'elle puisse exister aux très faibles doses, avec certes une probabilité infime, si on fait l'hypothèse qu'elle est de même nature que l'action mutagène.

C. — *LE PROBLÈME DE LA FAIBLE SENSIBILITÉ
DES ÊTRES VIVANTS
AUX IONISATIONS NATURELLES*

L'ionisation naturelle est un très petit phénomène à l'échelle de temps et d'espace des êtres vivants. Parmi les effets biologiques les mieux étudiés du point de vue de leur induction par les radiations ionisantes, ceux que l'on observe à l'état « spontané » ne peuvent être attribués à l'ionisation naturelle. Cette situation est-elle le résultat de circonstances fortuites? Est-elle la conséquence d'une « adaptation » des organismes à ce taux d'ionisations? Dans le cas d'une telle « adaptation », quel mécanisme pourrait avoir intervenu, et sur quel phénomène l'ionisation naturelle aurait-elle pu avoir prise?

La réponse à ces questions ne peut être pour le moment, que des plus spéculatives, puisque la radiation ionisante naturelle n'a pas été jusqu'ici rendue responsable de façon indiscutable, de phénomènes biologiques accessibles à l'expérimentation.

La discussion qui va suivre sera par conséquent basée sur un certain nombre d'extrapolations dont il serait vain de méconnaître le caractère d'extrême simplification.

On sait que les effets somatiques et génétiques des radiations ionisantes sont défavorables dans l'immense majorité des cas. Il s'agit, presque toujours, d'actions tissulaires qui sont des fonctions plus ou moins complexes de la dose, il s'agit surtout d'effets génétiques, dont on sait qu'ils ne sont guère avantageux.

Les quelques effets favorables ont été observés sur des mutations dont l'expression n'était bénéfique que dans certains biotopes. Un exemple classique est dû à Gustafsson (1950). Sur près de 800 mutants il n'a trouvé, chez l'orge, qu'un seul dont le rendement en graines est plus élevé que chez le type normal. Cependant, il faut pour cela que les cultures aient lieu dans la région du cercle polaire, où l'insolation est faible mais dure longtemps.

Wallace (1950), a trouvé que des élevages de *Drosophiles*, issues d'individus irradiés, témoignent d'une vitalité supérieure à celle des témoins. Selon Müller (1954), cela pourrait être le résultat de l'intensification de la pression de sélection jouant contre les individus déjà déficients, chez lesquels l'irradiation pourrait accroître le désavantage.

D. — L'IONISATION NATURELLE ET L'ÉVOLUTION

Dire que le débit des radiations ionisantes naturelles est faible n'a de sens que si l'on se place à l'échelle de temps et d'espace des êtres vivants. Pour la durée d'une année, ou pour celle d'une vie humaine, la dose fournie par les sources naturelles d'ionisations est effectivement très petite. Il n'en est plus ainsi aux dimensions des temps géologiques, c'est-à-dire aussi à celles de l'Évolution.

a) Selon les opinions actuelles, l'âge de la Terre se situerait entre 3 et 5 milliards d'années. Le refroidissement serait intervenu en quelques millions d'années, et très tôt, les conditions thermiques et hygroscopiques auraient atteint l'état actuel. La teneur des roches en substances radioactives était probablement dès cette époque, voisine de la teneur actuelle en raison de la disparition des corps à vie courte. En ce qui concerne la radiation cosmique, quelle que soit l'origine qu'on lui attribue, et quelles que soient les estimations faites sur l'âge de l'Univers, on s'accorde à penser que son taux et sa composition étaient peu différents de ceux qui nous sont contemporains. Le taux des ionisations naturelles serait donc parvenu à une valeur stable avant que les premières molécules biologiques eussent pu se constituer (1).

b) Les données que l'on possède sur l'âge de la biosphère sont bien plus incertaines. Les fossiles les plus anciens datent de l'antécambrien. Ils auraient une ancienneté de l'ordre d'un milliard et demi d'années. Si l'on suppose que les êtres vivants sont apparus sans délai à partir du moment où leur formation était possible, on peut évaluer à 2 ou 3 milliards d'années l'âge de la biosphère. Sa formation et son évolution se seraient effectués sous un taux, pratiquement constant, d'ionisations. Elle aurait accumulé, pendant cette période, une dose dont l'ordre de grandeur serait de 0,5 à 1 milliard de roentgens. Le fait que la vie ait pu se développer, et atteindre aux formes actuelles, donne à penser que des lésions provoquées par l'ionisation naturelle ont pu être réparées à l'échelle des populations.

c) Pour que l'ionisation naturelle ait pu avoir une influence « directrice » dans le sens de l'évolution des formes qui lui seraient peu vulnérables, il faut, que les êtres vivants aient pu être affectés à un degré quelconque par cette ionisation.

(1) Les éléments de ce paragraphe sont tirés du livre de A. DAUVILLIER, *Les rayons cosmiques*, Dunod, éd. (1954) et du livre de P. COUDERC, *L'expansion de l'Univers*, Presses Universitaires de France, 1950.

L'« adaptation » s'est-elle effectuée pour tous les individus selon un mécanisme dont le modèle serait celui d'une adaptation enzymatique ? Est-ce le résultat d'une sélection de nature génétique des formes trop radiosensibles ?

α) La première de ces éventualités est difficile à concevoir. D'une part, les systèmes radioprotecteurs étudiés jusqu'ici sont faiblement efficaces, et ne fournissent pas de modèles facilement transposables sur des populations dont chaque représentant devrait s'« adapter » à chaque génération. D'autre part, il n'y a pas d'exemples de telles adaptations de populations de cellules irradiées pendant de nombreuses générations.

β) La deuxième éventualité, celle d'une sélection, est facile à comprendre à travers une action sur le patrimoine génétique. Il est évident que l'accumulation de mutations pourrait entraîner une accélération du processus de l'évolution ou mener à l'extinction de l'espèce.

Quant au rôle sélectif par l'intermédiaire de la lignée somatique, il ne pourrait se concevoir que si le dommage provoqué était tel que l'individu meure avant d'avoir pu se reproduire. Les doses nécessaires pour réaliser de tels effets sont très supérieures à celles qui entraîneraient des lésions génétiques importantes.

δ) Pour comprendre le mécanisme selon lequel un flux constant de rayons ionisants pourrait devenir un facteur important de la détérioration d'un système génétique, on peut rechercher par quel processus un tel système serait susceptible d'accroître sa radiosensibilité. Les données expérimentales sur un tel sujet manquent presque complètement, et la discussion qui suivra sera forcément spéculative.

On peut envisager deux manières, d'ailleurs complémentaires, d'accroître la radiosensibilité d'un génôme, dans des conditions d'irradiation à flux constant.

α) Étant donné un gène ou un système génétique, la dose reçue sera d'autant plus élevée que le séjour sous l'irradiation sera plus grand. C'est ce que réaliserait un accroissement du temps de génération. Tel est bien le cas des bactéries lysogènes étudiées ci-dessus, chez qui on a trouvé que la fréquence des inductions s'accroît quand la dose par génération augmente.

c) La radiosensibilité pourrait s'élever si le « volume » sensible augmente.

Si l'on se représente le volume sensible d'un génôme comme la somme de ceux de ses gènes, l'augmentation peut se faire selon des processus que l'on peut schématiser comme suit :

α') L'augmentation du nombre des gènes.

β') L'augmentation du volume individuel de chacun d'eux.

En ce qui concerne α' , il n'y a pas de difficultés théoriques d'en concevoir la possibilité. Il est logique d'admettre que, moins un organisme est simple, plus son génotype comporterait de déterminants ; au cours de l'évolution, le perfectionnement croissant des espèces a pu correspondre à des génotypes de plus en plus compliqués.

Pour ce qui est de β' , la notion même de volume est très mal définie. A la lumière des derniers travaux sur le phage (Benzer, 1955) et sur la levure (Roman, 1956) il semble que la notion du gène, molécule unique, soit à réviser. Si l'on considère le gène comme l'unité fonctionnelle, mais ayant plusieurs unités de recombinaison, l'augmentation volumétrique peut se concevoir comme un accroissement du nombre de ces unités. Sur le plan de l'évolution, la signification d'une telle éventualité est peu claire.

A côté de l'augmentation des dimensions du génôme, on peut aboutir à une augmentation de la radiosensibilité si l'affinité du système pour les radicaux radioformés devenait plus grande.

Pour chacun des deux facteurs évoqués en α et en β , on peut définir un « volume critique » et un « temps de génération critique » tels que l'organisme qui les atteint accumule un nombre de mutations incompatibles avec le maintien de l'espèce. En fait, les deux facteurs qui viennent d'être considérés sont complémentaires. Si l'on fixe, pour un taux d'ionisations donné, une valeur pour le temps de génération, on détermine la valeur critique du volume sensible, et réciproquement. Il va de soi, qu'en l'absence de tout changement dans le volume ou dans le temps de génération, une augmentation du taux d'ionisation naturelle pourrait conduire aux valeurs critiques.

D'après les considérations qui viennent d'être exposées, on est tenté de se représenter l'ionisation naturelle comme étant une barrière à l'élaboration de génotypes, à la fois très complexes et de grande longévité.

Il semblerait que, parmi les espèces les mieux étudiées du point de vue de la radiosensibilité du patrimoine héréditaire, l'homme soit de celles qui soient les plus proches des valeurs critiques hypothétiques définies ci-dessus.

Des mécanismes ayant pour effet de faire reculer les limites imposées par l'ionisation naturelle existent. Tel est le cas de la diploidie, capable de masquer l'effet des mutations récessives. Tel est également le cas de la sexualité dont on sait qu'elle est avantageuse pour l'espèce en facilitant l'élimination du gène

délétère. A côté de ces moyens de « défense » dont l'origine est très ancienne, il semblerait qu'un mécanisme nouveau se soit manifesté à une époque récente. N'est-ce pas ainsi que l'on pourrait se représenter l'acquisition de l'intelligence dont un des effets les plus apparents est de faire baisser la pression de sélection ?

Les hypothèses dont on vient de discuter sur le rôle limitatif de l'ionisation naturelle sont-elles applicables à des exemples tirés des documents paléontologiques ? Toute extrapolation vers le passé est des plus incertaine en raison de l'absence de renseignements sur ce que pouvaient être les génotypes des espèces éteintes. Les estimations ne peuvent être basées que sur des analogies.

La question du mécanisme de l'extinction des groupes dont l'extension avait été considérable, est abordée par Arambourg (1950). A propos de la disparition des grands reptiles du Secondaire, l'auteur pense qu'un des facteurs déterminants pourrait avoir été la détérioration du matériel héréditaire. Parmi les causes de cette détérioration l'on serait tenté de faire figurer les ionisations naturelles. Il suffirait, pour que cette hypothèse soit raisonnable, que le temps de génération de ces espèces fut de quelques dizaines d'années, en supposant que celles dont la taille est la plus grande vivent le plus longtemps.

Si l'on s'en tient à de tels exemples, la question soulevée par l'influence de l'ionisation naturelle sur l'évolution risque de ne pas recevoir de réponse claire. La mort n'est pas, en effet, un phénomène spécifique, et l'extinction d'une espèce peut être la conséquence de processus multiples.

Une bonne indication sur une éventuelle influence de l'ionisation naturelle sur l'évolution serait fournie par la relation que l'on pourrait établir entre le taux d'évolution et la taille des individus, qui tendrait à s'accroître au cours de l'évolution d'une espèce (Newell, 1950). Simpson (1950) discute les quelques informations que l'on possède sur ce sujet. Il serait dangereux sur les données actuelles de vouloir trouver des arguments décisifs pour ou contre l'hypothèse discutée ici.

Le rôle de l'ionisation naturelle sur les êtres vivants apparaît assez difficile à évaluer. La difficulté est accrue par le peu de données que l'on possède sur les autres causes de mutation dans la nature.

Si l'hypothèse de la limitation imposée par les ionisations naturelles s'avérait exacte, la fixation de la durée des temps de génération au-dessous d'une certaine valeur imposerait un rythme à la reproduction et déterminerait, en quelque sorte, l'ordre de grandeur du temps biologique.

RÉSUMÉ

Trois aspects de l'action biologique des radiations ionisantes ont été abordés à l'aide du système lysogène d'*Escherichia coli* K12. Ce sont :

- 1) L'aspect quantitatif et la question de l'activité biologique des faibles doses.
- 2) L'influence des facteurs modificateurs de la radiosensibilité.
- 3) La question de l'action biologique d'une irradiation à flux constant sur une population de bactéries en multiplication.

1) L'ASPECT QUANTITATIF

Dans le système lysogène d'*E. coli* K12, ont été étudiées les actions léthales des rayons X sur les bactéries et sur le bactériophage λ . Le phénomène de l'induction, qui consiste en la production de phages sous l'influence des rayons X et γ , a permis de pousser l'analyse de l'action biologique des faibles doses jusqu'à des valeurs de l'ordre du roentgen. L'efficacité inductrice des rayons X de 15 keV et des rayons γ du radio-cobalt a été trouvée la même. La fréquence des bactéries induites en fonction de la dose, obéit à une relation de proportionnalité, ce qui dans la région des effets étudiés est indiscernable d'une exponentielle.

Le phénomène de l'induction constitue un modèle, qui permet de se représenter ce que pourrait être, en radiobiologie, un phénomène de seuil ou de baisse d'efficacité. On peut montrer que l'existence d'un seuil, présuppose qu'un mécanisme de régulation, indépendant de l'événement déclenché par l'irradiation, ait lieu. Au contraire, dans le cas de systèmes complexes, où un certain effet pourrait résulter d'actions multiples, une baisse

de l'efficacité est possible dans la région des faibles doses. Cette baisse serait, expérimentalement, indiscernable d'un seuil.

Ces considérations ont été appliquées au cas de l'induction. Le volume moyen d'une bactérie est inférieur à $0,4 \mu^3$. Or, avec une dose de 10 r, il se produit l'absorption d'un photon dans un volume de $25 \mu^3$, en moyenne. Étant donné que la longueur des trajectoires électroniques est inférieure à 5μ , on peut montrer que pour cette dose, et *a. fortiori* pour toute dose plus faible, il est très peu probable que deux trajectoires traversent une même bactérie. On en conclut que le phénomène de l'induction chez K12(λ) par les rayons X ne saurait comporter de seuil ou de baisse d'efficacité vers les faibles doses. Un raisonnement analogue peut être tenu pour les rayons γ du ^{60}Co .

Le phénomène de l'induction a été utilisé pour étudier l'influence du débit sur l'activité biologique des rayons X et γ . Il a été montré qu'une variation de ce débit, de 10^6 pour une dose de 10 r, est sans effet sur l'activité inductrice.

Les conclusions auxquelles on est parvenu, dans cette première partie, ont été discutées dans le cas de systèmes plus complexes, en particulier celui de l'induction de mutations et de cancers.

La sensibilité du test de l'induction permet d'envisager son utilisation comme dosimètre biologique dans les cas où l'hétérogénéité d'un rayonnement rend, du point de vue biologique, la dosimétrie physique aléatoire. Si l'on congèle les bactéries à -25°C , en présence de glycérine, il est possible de les garder inductibles, semble-t-il, de nombreuses semaines. La sensibilité du test s'en trouve toutefois légèrement diminuée.

2) LA MODIFICATION DE LA RADIOSENSIBILITÉ

Parmi les facteurs modificateurs de la radiosensibilité, l'oxygène joue un rôle de premier plan. Dans le système lysogène de K12, la survie des bactéries à une irradiation est affectée par la tension d'oxygène, tandis que l'induction et l'action léthale sur le phage λ ne le sont pas.

Dans l'étude de l'activité protectrice de différentes substances on a pris pour modèle la glycérine en raison de sa très faible toxicité. Ce corps a été trouvé radioprotecteur dans des conditions où l'on peut exclure l'intervention d'un facteur métabolique. L'activité croît en fonction de la concentration jusqu'à la valeur de 1 M à partir de laquelle débute un palier.

La glycérine ne protège pas le phage, et n'a pas d'action sur le phénomène de l'induction.

D'autres corps ont été essayés : des alcools, des acides organiques, qui ont été trouvés actifs. Par contre, l'acétone est sans action. Ceci élimine l'éventualité d'un mécanisme d'action où interviendrait un phénomène de déshydratation.

Un caractère commun à ces corps est la valeur très élevée des concentrations requises pour obtenir la protection la plus forte. Leurs effets sont, en tous points, comparables.

Fait important, la glycérine utilisée à la concentration de 1 M n'ajoute pas son activité à celle de l'anoxie.

L'hypothèse est faite que ces corps agiraient sur un des termes de la série des réactions dont dépend l'effet oxygène, mais qu'il ne s'agit pas d'une anoxie.

L'étude porte également sur la cystéine et la cystéamine.

Les bactéries ont été utilisées dans le cas d'animaux injectés de cystéine, pour explorer l'activité protectrice du plasma.

Il a pu être établi, dans ce cas particulier, que la radioprotection est essentiellement liée à une anoxie.

3) La question de l'action biologique d'un flux de rayons ionisants sur des bactéries en multiplication a été étudiée en prenant pour test le phénomène de l'induction. Des bactéries K12(λ) ont été mises dans un appareil à culture continue et irradiées avec les rayons γ d'une source de radium. Il a été constaté que la fréquence des inductions est liée à la dose délivrée par génération.

Partant des résultats obtenus avec les bactéries, on discute le problème de la faible sensibilité des êtres vivants aux ionisations naturelles.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ALEXANDER (A.), BACQ (Z. M.), COUSENS (S. F.), FOX (M.), HERVE (A.) et LAZAR (J.). *Mode of some action of substances which protect against the lethal effect of X rays*. Rad. Res. (1955), **2**, 392-415.
- (2) ANDERSON (E. H.). *The effect of oxygen on mutation induction by X rays*. Proc. Natl. Acad. Sc. U. S. (1951), **37**, 340-349.
- (3) ANDERSON (R. S.) et TURKOWITZ (H.). *The experimental modification of the sensitivity of yeast to roentgen rays*. Am. J. Roentg. (1941), **46**, 537-542.
- (4) ANDERSON (T. F.). *The growth of T2 virus on U. V. killed host cells*. J. Bact. (1948), **56**, 403.
- (5) ARAMBOURG (C.). *Le problème de l'extinction des espèces et des groupes*. In Paléontologie et transformisme, Albin-Michel éd. (1950), pp. 89-121.
- (6) BACQ (Z. M.). *La cystéamine protecteur par voie orale contre le rayonnement X*. Bull. Acad. Roy. Méd. Belg. (1952), **18**, 422.
- (7) BACQ (Z. M.) et ALEXANDER (P.). *Fundamentals of radiobiology*. Butterworths Scientifics Publication-London (1955).
- (8) BACQ (Z. M.) et HERVE (A.). *Protection of mice against a lethal dose of X rays by cyanide, azide and malonitrile*. Brit. J. Radiol. (1951), **24**, 617-621.
- (9) BACQ (Z. M.), HERVE (A.) et FISCHER (P.). *Rayons X et agents de chélation*. Bull. Acad. Roy. Méd. Belg. (1953), **18**, 226.
- (10) BAGG (H. J.). *The effect of roentgen rays in tumor in animals treated by prolonged continuous exposure of entire body*. Am. J. Roentg (1938), **40**, 418-426.
- (11) BAKER (W. K.) et SGOURAKIS (E.). *The effect of oxygen concentration on the rate of X rays induced mutations in Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. (1950), **36**, 176-184.
- (12) BARON (L. S.), SPIEGELMAN (S.), et QUASTLER (H. J.). *Enzyme formation in non viable cells*. J. Gen. Physiol. (1953), **36**, 631.
- (13) BARRON (G.), DICKMAN (S.), MUNTZ (J. H.) et SINGER (T. P.). *Studies on the mechanism of action of ionizing radiations*. J. Gen. Physiol. (1949), **32**, 537-552.
- (14) BENZER (S.). *Fine structure of a genetic region in bacteriophage*. Proc. Nat. Acad. Sc. (1955), **41**, 344-354.
- (15) BENZER (S.) et JACOB (F.). *Étude du développement du bactériophage au moyen d'irradiations par la lumière ultraviolette*. Ann. Inst. Past. (1953), **84**, 186-204.
- (16) BLAU (M.) et ALTENBURGER (K.). *Ueber einige Wirkungen von Strahlen II*. Z. Physik (1923), **12**, 315-329.
- (17) BLINKS (L. R.). *Effects of radiations on marine algae*. J. cell. Comp. Physiol. (1952), **39**, 11-18.
- (18) BLOOM (W.) et BLOOM (M. A.). *Histological changes after irradiation in Radiation biology* (1954), Mc Graw Hill éd., pp. 1091-1143.
- (19) BONET-MAURY (P.) et PATTY (F.). *Effets protecteurs de l'oxyde de carbone et autres gaz sur la souris irradiée in toto par les rayons X*. J. Radiol. Électrol. (1954), **35**, 851-853.

- (20) BONNIER (G.) et LUNNING (K. G.). *Studies on X-rays mutations in the white an forked loci in Drosophila melanogaster. I. A. statistical analysis of mutation frequency.* Héréditas (1949), **35**, 163-189.
- (21) BURCH (P. R.) et SPIERS (F. W.). *Radioactivity of the human beeing.* Science (1954), **120**, 719-720.
- (22) BURNETT (X. T.), STAPLETON (G. E.), MORSE (M. L.) et HOLLAENDER (A.). *Reduction of X-ray sensitivity of Escherichia coli B/r by sulphydryl compounds, alcohols, glycols and sodium hydrosulfite.* Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd. (1951), **77**, 636-638.
- (23) BURROWS (H.), MAYNEORD (W. V.) et ROBERTS (J. E.). *Neoplasia following the application of X-ray to inflammatory lesions.* Proc. Roy. Soc. (1937), **B 123**, 213-217.
- (24) CHAMBERS (H.) et RUSS (S.). *The bactericidal action of radium emanation.* Proc. Roy. Soc. Med. (1912), **5**, 198-212.
- (25) CHAPIRO (A.). *Sur la polymérisation des composés vinyliques amorcée par les rayons γ .* Thèse Fac. Sc., Paris (1950).
- (26) CHARLIER (R.). *Effects of cysteamine and cysteine on cardiac output and oxygen content of venous blood.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med (1954), **86**, 290-293.
- (27) CROWTHER (J. A.). *Some considerations relative to the action of X-rays on tissue cells.* Proc. Roy. Soc. London (1924), **B 96**, 207-211.
- (28) DALE (W. M.). *The effect of X-rays on enzymes.* Biochem. J. (1940), **34**, 1367-1373.
- (29) DALE (W. M.). *The effect of X-rays on the conjugated protein-d amino acid oxydase.* Biochem. J. (1942), **36**, 80-85.
- (30) DEMEREC (M.) et LATARJET (R.). *Mutations in bacteria induced by radiation.* Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. (1946), **11**, 38-49.
- (31) DESSAUER (F.). *Über einige Wirkungen von Strahlen.* I. Z. Physik (1923), **12**, 38-47.
- (32) DOERMANN (A. H.). *Intra cellular growth of bacteriophage.* Carnegie Institution of Washington Yearbook (1948), **47**, 176-186.
- (33) DOHERTY (G. D.). *Protection of chymotrypsin against gamma radiation.* Fed. Proc. (1952), **11**, 35-36.
- (34) DOWDY (A. H.), BENETT (L. R.) et CHASTAIN (S. M.). *Protective action of anoxic anoxia against total body roentgen irradiation of mammals.* Radiology (1950), **55**, 879-885.
- (35) EBERT (M.). *Hydrogen peroxyde under varying conditions of irradiation.* Radiobiology Symposium 1954 ; Butterworths Scientific publications (1955), pp. 30-38.
- (36) ELDJARN (L.) et PIHL (A.). *The metabolism in mammals of cystamine, cysteamine 2 aminothane, sulfinic acid (hypotaaurine) and taurine investigated by means of radioactive sulfur.* Symposium sur la biochimie du soufre (1956), Roscoff 136-150.
- (37) EPHRUSSI-TAYLOR (H.) et LATARJET (R.). *Inactivation par les rayons X d'un facteur transformant du pneumocoque.* Biochem. et Biophys. Acta (1955), **16**, 183-197.
- (38) EPSTEIN (H. T.) et ENGLANDER (S. W.). *X-radiation studies of a lysogenic bacteriophage.* Arch. Biochem. and Biophys. (1954), **52**, 394-399.
- (39) EVANS (M. G.), HUSH (N. S.) et URI (N.). *The energetics of reactions involving hydrogen peroxyde, its radical and its ions.* Quarterly Review (1952), **6**, 186-196.
- (40) EVANS (R. D.). *Quantitative inferences concerning the genetic effects of radiations on human beings* Science (1949), **109**, 299-304.
- (41) FIGGE (F. H. G.). *Cosmic radiation and cancer,* Science (1947), **105**, 323-325.
- (41 bis) FRANKLIN (R.). *The action spectrum for the U. V. Induction of lysis in Escherichia coli K 12.* Biochim. et Biophys. Acta (1954), **13**, 137-138.
- (42) FURTH (L.) et LORENTZ (E.). *Carcinogenesis by ionizing radiations.* Radiation Biology Mc Graw Hill éd. (1954), pp. 1145-1201.
- (43) GEORGE (E. P.), GEORGE (M.), BOTH (J.) et MORNING (E. S.). *Influence of cosmic radiation in induced carcinogenesis in Mice.* Nature (1949), **164**, 1044-1045.
- (44) GERSHMAN (R.), GILBERT (D. L.), NYE (S. W.) et FENN (W. D.). *Oxygen poisoning and X-irradiation. A mechanism in common.* Science (1954), **119**, 623-625.
- (45) GLOCKER (R.). *Quantum physik der biologischen Röntgenstrahlenwirkung.* Z. Phys. (1932), **77**, 653-675.
- (46) GOUCHER (C. R.), KAMEI (I.) et KOCHOLATY (W.). *Results and interpretation of X-irradiation studies with Escherichia coli.* Biochem. Dept. Army Med. Res. Lab. (18 August 1955), Report 206.

- (47) GRAY (L. H.). *A method of oxygen Assay applied to a study of the removal of dissolved oxygen by cysteine*. Intern. Conf. Radiol., Cambridge (1955).
- (48) GRAY (L. H.). *Aspects physiques de la radiobiologie, in Actions chimiques et biologique des radiations* (Masson et Cie, éd., 1956). **1**, p. 946.
- (49) GRAY (L. H.), CONGER (A. D.), EBERT (M.), HORNSEY (S.) et SCOTT (O. C. A.). *The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy*. Brit. J. Radiol. (1953), **26**, 638-648.
- (50) GREEN (A. B.). *A note on the action of radium on microorganisms*. Proc. Roy. Soc. London (1904), **B 73**, 375-381.
- (51) GUSTAFSSON (A.). *Mutations in agricultural plants*. Hereditas (1947), **33**, 1-100.
- (52) HALDANE (J. B. S.). *Mutations in man*. Proc. 8th Internat. Congr. Genetics Hereditas Suppl. Vol (1949), 267-273.
- (53) HALDANE (J. B. S.). *Genetical effects from products of nuclear explosions*. Nature (1955), **176**, 115.
- (54) HELDE (T.) et WALBERG (M.). *Some observations on the relation between radiation dose and blood change*. Acta Radiol. (1953), **40**, 435.
- (55) HERVE (A.) et BACQ (Z. M.). *Cyanure et dose léthale de rayons X*. Compt. Rend. Soc. Biol. (1949), **143**, 881-883.
- (56) HESS (U. F.) et EUGSTER (J.). *Cosmic radiation and its biological effects*. Fordham university press. (1948).
- (57) HEUBLEIN (A. C. A.). *A preliminary report on continuous irradiation of entire body*. Radiology (1932), **18**, 1051-1062.
- (58) HEWITT (H. B.) et READ (J.). *Search for an effect of oxygen on the direct X-ray inactivation of bacteriophage*. Brit. J. Radiol. (1950), **23**, 416.
- (59) HOLLAENDER (A.), BAKER (K.) et ANDERSON (E. H.). *Effect of oxygen tension and certain chemicals on the X-ray sensitivity of mutation production and survival*. Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. (1951), **16**, 315-325.
- (60) HOLLAENDER (A.) et DOUDNEY (C. O.). *Studies in the mechanism of radiation protection and recovery with cysteamine and mercaptoethanol*. Radiobiology Symposium 1954, Butterworths Scientific Publications (1955), pp. 112-115.
- (61) HOLLAENDER (A.) et STAPLETON (G. E.). *Fundamental aspects of radiation protection from a microbiological point of view*. Physiol. Rev. (1953), **33**, 77-84.
- (62) HOLLAENDER (A.) et STAPLETON (G. E.). *Studies on protection before and after exposure to X and gamma radiation*. Proc. Intern. Conf. on peaceful uses of atomic energy-Geneva (1955), **11**, 311-314.
- (63) HOLLAENDER (A.), STAPLETON (G. E.) et MARTIN (F. L.). *X-ray sensitivity as modified by oxygen tension*. Nature (1951), **167**, 103-104.
- (64) HOLTHUSEN (H.). *Beiträge zur biologie der Strahlenwirkung Untersuchungen an Askarideneiern*. Arch. ges. Physiol. (1921), **187**, 1.
- (65) HUTCHINSON (E.). *Energy requirement for the inactivation of bovine serum albumin by radiation*. Rad. Res. (1954), **1**, 43-52.
- (66) JACOB (F.). *Influence du régime carbone sur le développement des bactériophages chez un Pseudomonas pyocyanica*. Ann. Inst. Past. (1952), **72**, 578.
- (67) JACOB (F.). *Recherches sur la lysogénie*. Thèse Fac. Sci. Paris (1954).
- (68) KAPLAN (H. S.). *Preliminary study on the effectiveness of local irradiation in the induction of lymphoid tumors in mice*. J. Natl. Cancer Inst. (1949), **10**, 267-270.
- (69) KAPLAN (H. S.). *Further observations on the inhibition of lymphoid tumour development by shielding and partial body irradiation of mice*. Cancer Research (1951), **11**, 261.
- (70) KAPLAN (W. D.) et LYON (M. F.). *Failure of mercaptoethylamine to protect against the mutagenic effect of radiations. I. Experiments with Drosophila. II. Experiments with Mice*. Science (1953), **118**, 776 et 777.
- (71) KOLBOW (H.). *Dosisersparnis durch anwendung häterer X Strahlung in der Röntgen-diagnostik als Ergebnis intravaginalen dosismassung*. Stralenth. (1940), **68**, 620-644.
- (72) LACASSAGNE (A.). *Apparition des cancers de la mamelle chez la souris mâle soumise à des injections de folliculine*. C. R. Acad. Sci. (1932), **195**, 630-631.
- (73) LACASSAGNE (A.). *Action des rayons X et des corps radioactifs sur les êtres vivants*. In Traité de Physiologie (1933), **1**, 929-956.
- (74) LACASSAGNE (A.). *Chute de la sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau-né en état d'asphyxie*. C. R. Acad. Sci. (1942), **215**, 231-232.

- (75) LACASSAGNE (A.). *L'anoxie comme facteur de radiorésistance*. J. Radiol. Électrol. (1954), **35**, 12-15.
- (76) LACASSAGNE (A.), DUPLAN (J. F.) et BUU-HOI (N. P.). *Action préservatrice de dérivés phénoliques vis-à-vis de l'irradiation létale de la souris*. Radiobiology Symposium 1954, Butterworths Scientific Publications (1955), pp. 64-67.
- (77) LACASSAGNE (A.) et HOLWECK (F.). *Action bactéricide des rayons X mous*. C. R. Acad. Sc. (1929), **188**, 197-200.
- (78) LACASSAGNE (A.) et VINZENT (R.). *Sarcomes provoqués chez le lapin par l'irradiation d'abcès à Streptobacillus caviae*. Compte rend. Soc. Biol. (1929), **100**, 249-251.
- (79) LATARJET (R.). *Étude expérimentale de la réciprocité dans l'effet biologique primaire des radiations*. C. R. Acad. Sc. (1944), **218**, 294-296.
- (80) LATARJET (R.). *Induction par les rayons X de la production d'un bactériophage chez B. megathérium lysogène*. Ann. Inst. Past. (1951), **81**, 389-393.
- (81) LATARJET (R.). *Photorestauration après irradiation X chez une bactérie lysogène*. C. R. Acad. Sc. (1951), **232**, 1713-1715.
- (82) LATARJET (R.) et CALDAS (L. R.). *Restauration induced by catalase in irradiated microorganisms*; The J. Gen. Physiol. (1952), **35**, 455-470.
- (83) LATARJET (R.) et FREDERICO (P.). *An X-ray study of a colicine and of its Relation ship to Bacteriophage T 6*. Virology (1955), **1**, 100-107.
- (84) LATARJET (R.) et EPHRATI (E.). *Influence protectrice de certaines substances contre l'irradiation d'un bactériophage par les rayons X*. C. R. Soc. Biol. (1948), **228**, 1354-1357.
- (85) LATARJET (R.) et EPHRUSSI (B.). *Courbes de survie des levures haploïdes et diploïdes soumises aux rayons X*. C. R. Acad. Sc. (1949), **229**, 306-308.
- (85 bis) LATARJET (R.) et MILETIC (B.). *Action des ultra-violets longs et des visibles courts (3 400-5 500 Å) sur les complexes Bactéries-bactériophages*. Ann. Inst. Pasteur (1953), **84**, 205.
- (86) LATARJET (R.), MORENNE (P.) et BERGER (R.). *Un appareil simple pour le dosage des rayonnements ultra-violets émis par les lampes germicides*. Ann. Inst. Past. (1953), **85**, 174.
- (87) LATARJET (R.) et WAHL (R.). *Précisions sur l'inactivation des bactériophages par les rayons ultra-violet*. Ann. Inst. Past. (1945), **71**, 336.
- (88) LAVIN (G. I.), THOMPSON (R.H.S.) et DUBOS (R.). *The ultra-violet absorption spectra of fraction isolated from Pneumococci*. J. Biol. Chem. (1938), **125**, 75-78.
- (89) LEA (D. E.). *Actions of radiations on living cells*. Cambridge University Press. (1946).
- (90) LEA (D. E.), HAINES (R. B.) et COULSON (C. A.). *Bactéricidal action of radioactive radiations*. Proc. Roy. Soc. (1936), **B 123**, 1.
- (91) LEFORT (M.). *Action des radiations ionisantes sur l'eau et les solutions aqueuses*. Thèse Fac. Sc. Paris (1950).
- (92) LIBBY (W. F.). *Dosages from natural radioactivity and cosmic rays*. Science (1955), **122**, 57-58.
- (93) LOISELEUR (J.) et BACLESSE (F.). *Sur la diminution de la sensibilité cutanée du lapin hyperglycémique*. C. R. Soc. Biol. (1947), **141**, 1160-1161.
- (94) LOISELEUR (J.) et LATARJET (R.). *Formation d'hydroperoxydes dans les solutions aqueuses de corps organiques soumises à l'action des rayons X*. C. R. Soc. Biol. (1942), **136**, 57.
- (95) LORENZ (E.). *Some biologic effects of long continued irradiation*. The Amer. J. of Roentg. (1950), **63**, 176-185.
- (96) LORENZ (E.), HESTON (W. E.), ESHENBRENNER (A. B.) et DERINGER (M. K.). *Biological studies in the tolerance range*. Radiology (1947), **49**, 274-285.
- (97) LURIA (S. E.) et EXNER (F. M.). *Inactivation of bacteriophage by X-rays influence of the medium*. Proc. Natl. Acad. Sc. (1941), **27**, 370-375.
- (98) LWOFF (A.), SIMINOVITCH (I.) et KJELDGAARD (N.). *Induction de la production de bactériophages chez une bactérie lysogène*. Ann. Inst. Past. (1950), **79**, 815-859.
- (99) MACHT (S. H.) et LAWRENCE (P. S.). *National survey of congenital malformations resulting from exposure to roentgen radiation*. Am. J. Roentgenol. (1955), **73**, 442-466.
- (100) MANION (J. P.) et BURTON (M.). *Radiolysis of hydrocarbon mixtures*. J. Phys. Chem. (1952), **56**, 560-569.
- (101) MARCOVICH (H.). *A quantitative biological test sensitive to low doses of ionizing radiations*. Nature (1954), **174**, 796-797.

- (102) MARCOVICH (H.). *Étude radiobiologique du système lysogène d'Escherichia coli K12 aux rayons X*. Ann. Inst. Past. (1956), **90**, 303-319.
- (102 bis) MARCOVICH (H.) et DUPLAN (J. F.). *A bacteriological test for the study of radio-protection problems in mammals*. Advances in Radiobiology, pp. 192-196 (Oliver and Boyd éd.).
- (103) MARTIN (J. H.) et WILLIAMS (E. R.). *A note on the amount of radiation incident in the depth of the pelvis during radiological pelvimetry*. Brit. J. Radiol. (1946), **19**, 297-298.
- (104) MAYNEORD (W. V.). *The physical basis of the biological effects of high voltage radiation*. Proc. Roy. Soc. (1934), A, **148**, 867-879.
- (105) MAYNEORD (W. V.). *Some problems of radiation protection*. The Brit. J. Radiol. (1951), **24**, 525.
- (106) MOLE (R. H.). *Protection contre une irradiation totale par des moyens chimiques*. J. Chimie Physique. (1951), **48**, 258.
- (107) MONOD (J.). *Technique des cultures continues. Théorie et application*. Ann. Inst. Past. (1950), **79**, 390.
- (108) MONOD (J.) et COHN (M.). *La biosynthèse induite des enzymes (adaptation enzymatiques)*. Adv. Enzymol. (1952), **13**, 67-119.
- (109) MORSE (M. L.), BURKE (A. W. Jr) et BURNETT (W. T. Jr). *The absorption of oxygen from buffer solutions by cells of Escherichia coli B/r*. J. cell and Comp. Physiol. (1953), **41**, 407-417.
- (110) MULLER (H. J.). *Artificial transmutation of the gene*. Science (1927), **66**, 84-87.
- (111) MULLER (H. J.). *Genetic effects of cosmic radiations*. Physics and Medicine of the upper atmosphere. (1952), U. of Mexico press. pp. 316-330.
- (112) MULLER (H. J.). *The nature of the genetic effects produced by radiation*. Radiation Biology (1954 a), Mc Graw Hill éd., pp. 351-473.
- (113) MULLER (H. J.). *The manner of production of mutations by radiations*. Radiation Biology, Mac Graw Hill éd. (1954 b), pp. 475-626.
- (114) MULLER (H. J.) et MOTT-SMITH (L.M.). *Evidence that the natural radioactivity is inadequate to explain the frequency of «natural» mutations*. Proc. Natl. Acad. Sc. U.S. (1930), **16** 277-285.
- (115) MULLER (H. J.), HERSKOWITZ (I. H.), ABRAHAMSON (S.) et OSTER (I. I.). *A non linear relation between X-ray dose and recovered lethal mutations in Drosophila*. Genetics (1954), **39**, 741-749.
- (116) NEEL (J. V.), SCHULL (W. J.), Mc DONALD (D. J.), MORTON (N. E.), KODANI (M.), TAKESHIMA (K.), ANDERSON (R. C.), WOOD (J.), BREWER (R.), WRIGHT (S.), YAMAZAKI (J.), SUZUKI (M.) et KITAMURA (S.). *The effect of the exposure to the atomic bombs on pregnancy termination in Hiroshima and Nagasaki : preliminary report*. Science (1953), **118**, 537-541.
- (117) NEWELL (N. D.). *Phyletic size increase, an important trend illustrated by fossil invertebrates*. Évolution (1950), **3**, 103-124.
- (118) NOVICK (A.) et SZILARD (L.). *Description of the chemostat*. Science (1950), **112**, 715.
- (119) OLIVER (C. P.). *The effect of varying the duration of X-rays treatment upon the frequency of mutation*. Science (1930), **71**, 44-46.
- (120) PATT (H. M.). *Protective mechanisms in ionising radiation injury*. Physiol. Rev (1953), **33**, 37-76.
- (121) PATT (H. M.), BLACKFORD (M. E.) et STRAUBE (R. L.). *Effect of X-rays on thymocytes and its modification by cysteine*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1952), **80**, 92-97.
- (122) PATT (H.) et BRUES (A. M.). *The pathological physiology of radiation injury in mammals. I. Physical and biological factors in radiation action*. Radiation Biology (1954), Mc Graw Hill éd., pp. 919-958.
- (123) PATT (H. M.), MAYER (S. H.), STRAUBE (R. L.) et JACKSON (E. M.). *Radiation dose-reduction by cysteine*. J. Cell. and Comp. Physiol. (1953), **42**, 327.
- (124) PATT (H. M.), TYREE (E. B.), STRAUBE (R. L.) et SMITH (D. E.). *Cysteine protection against X irradiation*. Science (1949), **110**, 213-214.
- (125) PATTERSON (E.) et MATTHEWS (J. J.). *Protection of ethyl alcohol on irradiated mice*. Nature (1951), **168**, 1126-1127.
- (126) PREISKEL (E.) et POLLOCK (M.). *Hysterosalpingography in femal infertility*. Lancet (1953), **2**, 374.
- (127) RAJEWSKI (B.). *Radiation death in mammals*. Radiology Symposium 1954, Butterworths Scientific Publications, London (1955), pp. 81-92.

- (128) RICHTER (A.) et SINGLETON (W. R.). *The effect of chronic gamma radiation on the production of somatic mutations in carnation*. Proc. Nat. Acad. Sc. (1955), **41**, 295.
- (129) ROUYER (M.) et LATARJET (R.). *Augmentation du nombre de bactériophages en présence de bactéries stérilisées par l'irradiation*. Ann. Inst. Past. (1946), **72**, 89-94.
- (130) RUSSELL (W. L.). *X rays induced mutations in mice*. Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. (1952), **16**, 327-336.
- (131) RUSSELL (W. L.), KILE (J. C.) et RUSSELL (L. B.). *Failure of hypoxia to protect against the radiation induction of dominant lethals in mice*. Genetics (1951), **36**, 574.
- (132) SALERNO (P. R.) et FRIEDEL (H. L.). *Further studies on the relationship between oxygen tension and the protective action of cysteine, mercaptoethylamine and p-aminopropiophenone*. Rad. Res. (1954), **1**, 559.
- (133) SIMPSON (R. G.). *Rythme et modalités de l'Évolution*. Albin Michel éd., Paris (1950).
- (134) SIMPSON (C. L.), HEMPELMANN (L. H.) et FULLER (L. M.). *Neoplasia in children treated with X rays in infancy thymic enlargements*. Radiology (1955), **64**, 840-845.
- (135) SINGLETON (R. W.). *The effect of chronic γ radiation on endosperme mutation in Maize*. Genetics (1954), **39**, 741-749.
- (136) SPARROW (A. H.) et SINGLETON (W. R.). *The use of radiocobalt source of γ rays and some effect of chronic irradiation on growing plants*. Amer. Naturalist. (1953), **87**, 29-48.
- (137) SPENCER (W. P.) et STERN (C.). *Experiments to test the validity of the linear r-dose / mutation frequency relation in Drosophila at low dosage*. Genetics (1948), **33**, 43-74.
- (138) STANFORD (R. W.) et VANCE (J.). *The quantity of radiations received by the reproductive organs of patients during routine diagnostic X rays examination*. Brit. J. Radiol. (1955), **28**, 266-273.
- (139) STAPLETON (G. E.), BILLEN (D.) et HOLLAENDER (A.). *The role of enzymatic oxygen removal in chemical protection against X-rays inactivation of bacteria*. J. Bact. (1952), **63**, 805-811.
- (140) STORER (J. B.) et COON (J. M.). *Protective effect of para-aminopropiophenone against lethal doses of X radiation*. Proc. Soc. Biol. Med. (1950), **74**, 202-204.
- (141) THODAY (J. M.) et READ (J.). *Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-rays*. Nature (1947), **160**, 608.
- (142) TOBIAS (C. A.). *Radiation hazards in high altitude aviation*. The J. of aviation Med. (1952), **23**, 347-372.
- (143) TOBIN (J. O'H.). *Some observations on the effect of X-rays on the behaviour of a temperate phage in two strains of P. pyocyanea*. Brit. J. Exp. Path. (1953), **XXXIV**, 635-646.
- (144) TIMOFEEFF-RESSOVSKY (N. W.). *Zur frage der Beziehungen zwischen strahlenange sloten Punkt und chromosomenmutationen bei Drosophila melanogaster*. Chromosoma (1939), **1**, 310-316.
- (145) TROWELL (O. A.). *The effect of environmental factors on the radiosensitivity of lymph nodes cultured in vitro*. Brit. J. Radiol. (1953), **26**, 302-309.
- (146) UPHOFF (D. E.) et STERN (C.). *The genetic effects of low intensity irradiation*. Science (1949), **109**, 603-610.
- (147) UPTON (A. C.) et FURTH (J.). *Induction of pituitary tumors by mean of ionizing radiations*. Proc. Soc. Exp. Biol. (1953), **84**, 255.
- (148) WATSON (J. D.). *The properties of X-rays inactivated bacteriophage. II. Inactivation by indirect effects*. J. Bact. (1952), **63**, 473-485.
- (149) WEIGLE (J.) et DELBRUCK (M.). *Mutual exclusion between an infected and a carried phage*. J. Bact. (1951), **62**, 301-318.
- (150) WEISS (J.). *Radiochemistry of aqueous solutions*. Nature (1944), **153**, 748-750.
- (151) WESTERGAARD (M.). *Man's responsibility to his genetic heritage*. Bull. of the atomic scientists (1955), **XI**, 318.
- (152) WITKIN (E.). *Nuclear segregation and the delayed appearance of induced mutants in Escherichia coli*. Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. (1951), **XVI**, 357-372.
- (153) WOLLMAN (S. H.). *Comments on the analysis of dose response data in experimental carcinogenesis*. J. Natl. Cancer. Inst. (1955), **16**, 195-204.
- (154) WRIGHT (S.). *Discussion on population genetics and radiation*. J. Cell. and Comp. Physiol. (1950), **35**, suppl. **I**, 187-210.
- (155) ZELLE (M. R.) et HOLLAENDER (A.). *Monochromatic ultraviolet action spectra and quantum yields for inactivation of T1 and T2 Escherichia coli bacteriophages*. J. Bact. (1954), **68**, 210-215.
- (156) ZIMMER (K. G.). *Über dosismessungen während Röntgendiagnostik*. Fort. Geg. Röntgenst. (1935), **51**, 418-421.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.	9

Chapitre Premier

ACTION DES RAYONS X, γ ET ULTRA-VIOLETS SUR LE SYSTÈME	
LYSOGÈNE D'ESCHERICHIA COLI K12.	13
I. — Matériel et technique	14
II. — Action des rayons X et γ	16
III. — Action des rayons ultra-violets	32
IV. — Discussion	40

Chapitre II

I. — Quelques aspects théoriques de la relation dose-effet	47
II. — Application au cas de l'induction de K12(λ) par les rayons X et γ	51
III. — Le facteur temps	60
IV. — Application au cas des organismes pluricellulaires. .	61
V. — L'utilisation pratique du test biologique constitués par l'irradiation des bactéries lysogènes.	65

Chapitre III

ÉTUDE DE LA RADIOPROTECTION CHIMIQUE CHEZ K12(λ) . . .	70
I. — Introduction	70
II. — Étude expérimentale	74
III. — Influence de l'oxygène.	75
IV. — Influence des facteurs chimiques	78
V. — Discussion	93

VI. — Application à l'étude de la radioprotection par la cystéine	95
VII. — Conclusion.	100

Chapitre IV

ÉTUDE D'UNE POPULATION DE BACTÉRIES LYSOGÈNES EN MUL- TIPLICATION DANS UN CHAMP CONSTANT DE RAYONS γ . . .	102
--	-----

Chapitre V

RADIATIONS IONISANTES NATURELLES ET MATIÈRE VIVANTE . .	115
RÉSUMÉ	125
BIBLIOGRAPHIE	129

———— ORLÉANS ————
IMPRIMERIE NOUVELLE
(N° 4010 — 2-1959)
Dépôt légal : 1^{er} trim. 1959
